

T. XXXI. — 1917. Janvier. — N° 1.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX



PARIS

MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : 18 francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : 20 francs.

SOMMAIRE DU N° 1

ANNALES

DE L'INSTITUT PASTEUR

PARIS. — L. MARETHEUX, IMPRIMEUR, 1, RUE CASSETTE.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

TOME TRENTE ET UNIÈME

1917

AVEC 8 PLANCHES

PARIS

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, Boulevard Saint-Germain (6e).

BULLETIN

DE LA

Société de Pathologie exotique

Siège de la Société : Institut Pasteur, Paris

Paraît 10 fois par an, 15 jours après chaque séance qui a lieu le 2e mercredi du mois, sauf en août et septembre.

Le volume de 1915, qui atteint 800 pages, avec figures dans le texte et planches hors texte, ne le cède en rien, malgré les circonstances, à ceux des années précédentes.

PRIX DE L'ABONNEMENT :

France : 18 fr. — Union postale : 20 fr.

31e ANNÉE JANVIER 1917 N° 1

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES SUR LA VIRULENCE DU MUSCLE ET DES GANGLIONS APPAREMMENT SAINS DANS LA TUBERCULOSE GÉNÉRALISÉE DU BŒUF ET DU PORC

par le Dr P. CHAUSSÉ.

I. — Historique.

Il semble qu'un nombre assez important de travaux aient été faits sur la virulence du muscle dans la tuberculose généralisée. A la vérité, il n'en est rien.

Il ne faut, en effet, attribuer aucune valeur à toutes les recherches effectuées par ingestion ; car nous avons constaté, dans des expériences en grande partie inédites, que le cobaye lui-même résiste couramment à l'ingestion de plusieurs millions de bacilles très virulents et finement divisés, et à une quantité beaucoup plus forte encore de virus si celui-ci consiste en de la matière tuberculeuse bovine grossièrement broyée.

Quant aux recherches faites par inoculation, il n'est pas possible de retenir celles qui comprennent un très petit nombre d'échantillons de muscle, parfois un seul, ni celles dans lesquelles on a utilisé comme réactif le lapin, sachant que cet

animal est particulièrement résistant à des inoculations de faibles doses.

Nous dirons même qu'il faut considérer comme insuffisamment probantes les épreuves faites par inoculation intrapéritonéale au cobaye, parce que le péritoine, mieux adapté à la phagocytose que le tissu conjonctif, peut résorber quelques unités bacillaires et ainsi ne pas révéler une virulence extrêmement faible. Or la plupart des auteurs ont employé ce mode d'épreuve, considéré jusqu'ici comme le plus sévère.

Pour cet ordre de recherches la voie intraveineuse est encore moins apte que le péritoine parce qu'elle est la plus favorable à la phagocytose.

Enfin, les causes de souillure extérieure du muscle n'ont pas toujours été évitées avec certitude (S. Martin, 1895; Commission anglaise).

Les recherches effectuées dans l'espèce humaine, sur des sujets morts de tuberculose, lesquelles établissent, semble-t-il, que le muscle est assez fréquemment virulent (Leclainche, Strauss, Steinheil), ne permettent pas de conclure qu'il en est de même chez les animaux de boucherie; ces derniers, malgré la maladie, sont le plus souvent en bonne santé apparente; de plus, pour les sujets humains, on a inoculé à la fois le sang et le muscle et c'est sans doute le sang qui, dans les cas positifs, recélait l'agent pathogène.

Dans trois tableaux ci-contre nous résumons l'historique de la question de la virulence musculaire et ganglionnaire, soit par inoculation sous-cutanée ou autre, soit par ingestion.

II. — Virulence du muscle.

Pour élucider la question de la virulence du muscle, au point de vue de l'hygiène alimentaire, nous avons pratiqué de nouvelles recherches dans les conditions suivantes :

Des fragments de muscle ont été prélevés sur 18 porcs et 42 bovins abattus en vue de la consommation et *saisis pour tuberculose massive avec généralisation indiscutable* : lésions pulmonaires, séreuses, hépatiques, quelquefois rénales, osseuses, ou tuberculose des ganglions des membres.

TABLEAU. I. *Historique*. — **Virulence du muscle recherchée par ingestion.**

AUTEURS et DATES DES TRAVAUX	PRODUITS ÉPROUVÉS	ESPÈCE ET NOMBRE des ANIMAUX D'EXPÉRIENCE	RÉSULTATS POSITIFS	RÉSULTATS NÉGATIFS	OBSERVATIONS
BOLLINGER, 1890 . . .	Viande de 6 bovins tuberculeux généralisés.	Probablement des chiens en nombre non indiqué.	0	Tous.	Le chien est réfractaire ; on obtient seulement de l'infection occulte (P. Chaussé, 1910).
GALTIER, 1891-1892 . .	Viande de bœufs tuberculeux généralisés.	4 chiens, 1 chat, 2 poules, 2 veaux et 2 porcs.	0	Id.	Le chat est parfois réfractaire, la poule l'est généralement.
LECLAINCHE, 1896. . .	Muscles d'homme ou de femme atteints de tuberculose généralisée.	15 cobayes.	0	Id.	
NOCARD, 1888	Viande de bovins tuberculeux généralisés.	4 chats.	0	Id.	Même observation que ci-dessus pour le chat.
PERRONCITO, 1892 . .	Viande de bovins tuberculeux généralisés.	18 porcelets.	0	Id.	Il s'agit de la viande en totalité et non du muscle seul.
S. MARTIN, 1895 . . .	Muscles de 21 vaches tuberculeuses, dont 5 tuberculeuses généralisées.	Cobayes.	3	18	L'auteur pense que la viande a été souillée.
THOMASSEN, 1898 . . .	Viande de bovins tuberculeux généralisés.	Environ 15 porcelets.	Trois porcelets, qui avaient reçu, avec intention des esquilles osseuses, furent infectés.	Env. 12	Il s'agit de la viande en totalité et non du muscle seul.

TABLEAU II. *Historique.* — **Virulence du muscle recherchée par inoculation.**

AUTEURS et DATES DES TRAVAUX	PRODUITS ÉPROUVÉS	MODE D'INOCULATION	ESPÈCE ET NOMBRE des animaux D'EXPÉRIENCE	RÉSULTATS POSITIFS	RÉSULTATS NÉGATIFS	OBSERVATIONS
TOUSSAINT, 1880 . .	Muscle ischio-tibial de vache tuberculeuse généralisée.	Sous la peau.	1 porc.	Le sujet devint tuberculeux.		Résultat très douteux.
GALTIER, 1879-1884 .	Suc musculaire de 15 vaches tuberculeuses généralisées.	Sous la peau : 1 cent. cube aux lapins, 8 c c. aux moutons.	Lapins et moutons.	2 séries positives.	13 séries négatives.	
GALTIER, 1886-1887 .	Muscles d'une vache tuberculeuse et d'un lapin.	Intraveineuse.	Lapins.	2 lapins tuberculeux.	1 lapin sain.	Communications incomplètes sur de nombreux points : Il n'est pas possible d'en faire état.
GALTIER, 1888 . . .	Suc musculaire de 7 vaches, tuberculeuses généralisées.	?	Cobayes.	2 tuberculeux.	5 sains.	
ARLOING et CHAUVEAU, 1885. . . .	Muscles de 2 bœufs tuberculeux généralisés.	Péritoine (?)	26 cobayes.	2 tuberculeux dans le même lot sur 26 inoculés.	24 sains.	Chaque cobaye a été inoculé avec seulement 2 gouttes de suc musculaire.
PEUCH, 1888	Muscle d'une vache tuberculeuse généralisée.	?	3 lapins.	3 tuberculeux.	0	Communication incomplète.
WEYSSIÈRE et HUMBERT, 1888	Muscle d'une vache tuberculeuse généralisée.	?	2 lapins.	2 tuberculeux.	0	Communication incomplète.
GRATIA et LIÉNAUX 1888	Muscles de 2 hommes et d'une vache tuberculeux généralisés.	Péritoine.	3 cobayes en tout.	2 tuberculeux avec muscle humain.	1 cobaye sain.	
NOCARD, 1888 . . .	Suc musculaire de 21 vaches tuberculeuses généralisées.	Péritoine.	84 cobayes, avec 1 cent. cube.	1 cobaye tuberculeux dans un lot de 4.	20 séries négatives.	Ce travail est l'un des meilleurs.
STUBBE, 1888. . . .	Muscles de 3 vaches tuberculeuses généralisées	?	9 lapins.	2 tuberculeux sur 3 d'un lot.	2 séries négatives.	

KASTNER, 1889 . . . (1re série).	Suc musculaire de 12 bovins tuberculeux généralisés.	Péritoine.	16 cobayes.	0	Tous.	
KASTNER, 1889 . . . (2e série).	Suc musculaire de 7 bovins tuberculeux généralisés.	Péritoine.	12 cobayes.	10 tuberculeux.	2 sains.	Les cobayes sains ont été inoculés avec le muscle d'un sujet atteint de tuberc. localisée. Résultat invraisemblable
PERRONCITO, 1889-1891.	Suc musculaire de bovins tuberculeux généralisés.	Sous la peau et dans le péritoine.	Environ 400 lapins et cob., plus 2 bovins.	0	Tous.	Communication incomplète.
STEINHEIL, 1889 . .	Muscles de 8 hommes morts de tuberculose généralisée.	Péritoine.	16 cobayes.	15 tuberculeux.	Aucun.	Résultat surprenant et invraisemblable.
BOLLINGER, 1890 . .	Suc muscul. de bovins tub. généralisés.	?	?	1 résultat positif.	5 négatifs.	
FORSTER, 1890 . . .	1 à 3 grammes de muscle de 7 bœufs tuberc. généralisés.	Péritoine.	Lapins et cobayes.	3 séries positives.	4 séries négatives.	
OSTERTAG, 1891 . .	Muscles de 6 vaches tuberc. généralisées.	Péritoine.	17 cobayes.	0	Tous.	Ce travail est l'un des meilleurs.
STRÖSE, 1894. . . .	Muscle d'un porc tuberc. généralisés.	Péritoine.	4 lapins.	0	4	
S. MARTIN, 1895 . .	Muscles de 21 vaches tuberculeuses généralisées.	?|	Cobayes.	1 série positive.	20 séries négatives.	L'auteur croit que dans le cas positif la viande a été souillée.
STRAUSS, 1895 . .	Muscles de 6 hommes morts de tuberculose généralisée.	Péritoine (2 cent. cubes).	11 cobayes.	7 tuberculeux.	4 cob. sains.	
LECLAINCHE, 1896. .	Suc musculaire de 8 hommes ou femmes, morts de tuberculose généralisée.	Péritoine (1 à 5 cent. cubes).	37 cobayes.	5 cobayes tuberculeux.	32 sains.	Les tuberculeux comprennent : dans 1 cas, 3 cobayes sur 3 ; dans 2 cas, 1 cobaye sur 3 inoculés.
WESTENHOEFFER, 1904	Suc musculaire de 5 bœufs tuberculeux généralisés.	Sous la peau.	Cobayes et lapins.	4 tuberculeux et 3 sains dans un lot.	4 séries négatives sur 5.	
HOEFNAGEL et WESTENHOEFFER, 1905 .	Suc musculaire de 10 bœufs ou porcs tuberculeux général.	?	1 veau, 1 chèvre, 2 porcelets, plusieurs lap. et cob.	0	Tous.	

TABLEAU III. *Historique.* — **Présence de bacilles dans les ganglions apparemment sains de bœufs et de porcs tuberculeux.**

AUTEURS ET DATES des TRAVAUX	NOMBRE de ganglions ÉPROUVÉS	NOMBRE de cobayes INOCULÉS	MODE D'INOCULATION	RÉSULTATS POSITIFS	RÉSULTATS NÉGATIFS	OBSERVATION
GALTIER, 1888. .	1 ganglion poplité de vache tubercul. généralisée.	1 cobaye (?)	Sous la peau (?)	Ganglion virulent.		
JOEST, NOACK et LIEBRECHT, 1907 .	57 ganglions de 38 bovins tuberculeux généralisés.	114 cobayes.	Sous la peau (?)	27 ganglions de bœufs et 4 ganglions de porcs.	30 ganglions de bœufs et 78 de porcs.	
	82 ganglions de 55 porcs tuberculeux généralisés.	164 cobayes.				
S. ARLOING, 1909.	9 ganglions de vache tuberculeuse généralisée.	42 cobayes.	Sous la peau.	6 ganglions virulents, avec 13 cobayes tuberculeux.	3 ganglions non virulents avec 29 cobayes sains.	S. Arloing inocule en général les ganglions axillaires, qui peuvent être infectés directement par la plèvre, puisque celle-ci est fortement lésée.
LINNENBRINK, 1909.	31 ganglions musculaires de bovins et 33 ganglions musculaires de porcs, tous tuberculeux généralisés.	127 cobayes.	Sous la peau.	7 ganglions de bœufs et 5 de porcs sont virulents.	24 ganglions de bœufs et 28 de porcs.	
SMIT, H. J., 1909.	40 ganglions de bovins tuberculeux généralisés.	120 cobayes.	Dans la cuisse.	7 ganglions virulents.	33 ganglions, non virulents.	

Chez le porc, il convient de remarquer que la bacillémie est précoce et qu'elle détermine des éruptions miliaires multiples, particulièrement nettes dans le poumon, le foie et la rate. Chez le bœuf, la généralisation est, dans la règle, apparemment moins riche, car les tubercules sont moins nombreux dans les divers parenchymes; elle est traduite surtout par les tubercules hépatiques, rénaux, spléniques, les lésions des corps vertébraux et des ganglions extrasplanchniques.

Les fragments de muscle ont été *cautérisés jusqu'à carbonisation superficielle*, avec un auto-cautère pour feu en raies, appliqué à plat une vingtaine de fois, mais en laissant refroidir la surface musculaire après chaque contact du fer rouge; la surface cautérisée était de 15 à 20 cent. carrés. Avec un matériel stérile, des fragments plus petits, de 2 cent. cubes environ, ont été découpés dans le centre et au-dessous de la partie cautérisée, allant assez profondément dans le tissu musculaire; on se rend compte que, dans ces conditions, la chaleur n'a pénétré qu'à 2 ou 3 millimètres.

Les petits fragments de muscle, ainsi détachés aseptiquement, ont été broyés isolément au mortier, avec du sable stérile, et en ajoutant finalement un peu d'eau lorsque la désagrégation des faisceaux était faite. Nous obtenions ainsi quelques cent. cubes de liquide rose contenant à la fois le suc musculaire et un grand nombre de fibres dissociées; c'est ce liquide qui a été inoculé sous la peau du cobaye à raison de 2 à 3 centimètres cubes pour chaque animal d'expérience et de 3 à 5 cobayes pour chaque échantillon de muscle.

Les muscles dont il a été prélevé des échantillons ont été : chez le porc les adducteurs de la cuisse; chez le bœuf ces mêmes adducteurs ou les psoas et quelquefois le long dorsal.

Pour les 60 échantillons de muscle ainsi éprouvés (18 porcs et 42 bovins) 209 cobayes ont survécu un temps suffisant après l'inoculation (de 30 jours à 4 ou 5 mois) ; un petit nombre seulement sont morts d'affection intercurrente; le très grand nombre ont été sacrifiés à partir du 45e jour après l'inoculation; *aucun de ces animaux n'a été reconnu tuberculeux à l'autopsie.*

III. — Virulence des ganglions macroscopiquement sains.

Au point de vue de l'inspection des viandes et de la prophylaxie il importe pareillement d'être fixé sur la fréquence de la virulence des ganglions chez les animaux tuberculeux.

Lorsque la maladie est généralisée on trouve assez communément des lésions caséeuses des ganglions éloignés des cavités splanchniques : pré-scapulaires, poplités, cruraux, inguinaux; quelques-uns de ces ganglions contiennent de gros foyers ramollis ou bien des tubercules secs et confluents en nombre variable. Toutefois, chez les animaux saisis totalement pour tuberculose, il est exceptionnel que la totalité des ganglions musculaires soient atteints visiblement : environ un tiers ou un quart de ces ganglions sont macroscopiquement lésés, tandis que les autres sont d'aspect absolument normal. Enfin, beaucoup de sujets atteints de tuberculose étendue et généralisée (lésions du foie. de la rate, des reins, du poumon) ne présentent aucun tubercule constitué dans leurs ganglions intra-musculaires.

La question est de savoir si ces ganglions macroscopiquement sains, observés chez des animaux tuberculeux avancés, sont virulents.

Pour être fixé sur ce point nous avons prélevé lesdits ganglions extraviscéraux chez des bovins et des porcs saisis pour tuberculose généralisée nette; ces ganglions ont été groupés par paires symétriques, par exemple, les deux poplités, les deux cruraux, les deux pré-scapulaires. Ceux qui présentaient des lésions immédiatement constatées par le simple toucher ou l'incision ont été rejetés; ceux qui n'étaient pas lésés à l'examen superficiel et rapide ont été mis de côté aux fins d'inoculation.

Après *cautérisation de la surface jusqu'à carbonisation*, à l'aide du couteau de l'auto-cautère en raies, un fragment cubique de chacun de ces derniers ganglions a été prélevé et mis dans un mortier avec le fragment semblable du ganglion opposé du même animal; on s'assurait alors que le reste de ces ganglions ainsi que les fragments prélevés ne présentaient aucun tubercule visible à l'œil nu; puis on procédait au broyage

au mortier avec du sable et de l'eau stériles. Le liquide obtenu contenait le suc et la pulpe ganglionnaires ; pour chaque paire de ganglions le suc a été inoculé sous la peau de 4 ou 5 cobayes.

Chez le porc, les ganglions ont été inoculés en totalité parce qu'ils sont de petit volume : on n'a pas inoculé de ganglions pré-scapulaires, ceux-ci pouvant être infectés directement à partir des lésions des ganglions maxillaires ; l'épreuve a été faite avec les cruraux, les inguinaux ou les poplités. Chez le bœuf, étant donnés le volume et la résistance des ganglions, un fragment a seul été employé.

En ce qui concerne le système lymphatique nos résultats confirment ceux obtenus par Joest, Noack et Liebrecht (1907), S. Arloing (1909), Linnenbrink (1909), H. J. Smit (1909).

Pour les 9 paires ganglionnaires venant du porc *la virulence a été constatée deux fois, avec, dans chaque cas positif, trois cobayes tuberculeux sur trois survivants.*

Pour les 44 paires de ganglions venant du bœuf *la virulence a été enregistrée 11 fois.* Ces résultats positifs se décomposent ainsi :

Dans 3 cas, 5 cobayes sur 5 ont été tuberculisés ;

Dans 2 cas, 4 cobayes sur 4 ont été infectés ;

Dans 2 autres cas, 3 cobayes sur 3 ;

Dans 1 cas, 1 cobaye sur 1 a été tuberculeux ;

Dans 3 autres cas, une partie seulement des cobayes inoculés sont devenus tuberculeux et l'on a ainsi obtenu : une fois 2 cobayes tuberculeux et 2 sains, et 2 fois 2 cobayes tuberculeux et 1 sain.

Mais nous devons ajouter que *la tuberculose communiquée a été généralement à évolution lente.* En outre, nous voyons ci-dessus que, parfois, pour un échantillon de ganglion virulent, une partie seulement des cobayes étaient tuberculisés tandis qu'un ou plusieurs autres restaient sains. Ces deux constatations nous démontrent de façon évidente que la richesse bacillaire du liquide inoculé était faible et que les bacilles n'étaient pas simplement atténués, car, en cas d'atténuation bacillaire existant seule, l'évolution des lésions eût été lente chez le cobaye, mais un échantillon virulent eût rendu tuberculeux tous les animaux inoculés avec lui et non pas seulement quelques-uns.

Nous considérons que les ganglions reconnus virulents étaient histologiquement lésés, fait qui a été démontré par les auteurs étrangers cités plus haut. Nous n'avons pas procédé à l'examen microscopique parce qu'il est sans intérêt pratique, et parce que nous ne pouvions examiner ainsi le fragment inoculé lui-même, mais seulement un fragment immédiatement voisin du même ganglion. Par d'autres examens, et d'accord avec ces auteurs étrangers, nous savons que, dans ces cas de lésions ganglionnaires non visibles macroscopiquement, on trouve, dans le tissu, quelques cellules géantes ou épithélioïdes et, parfois, des bacilles en petit nombre.

IV. — Discussion et conclusions

Les résultats que nous avons obtenus, par les inoculations de muscles et de ganglions, sont condensés dans le tableau IV.

Tableau IV. — **Récapitulation.**

Espèce animale	Nature du produit inoculé	Nombre d'échantillons inoculés	Nombre d'échantillons virulents	Nombre de cobayes tuberculeux	Nombre de cobayes restés sains
1° Inoculations de muscle :					
Porcs tuberculeux généralisés.	Muscles adducteurs de la cuisse.	18	0	0	69
Bovins tuberculeux généralisés.	Muscles de la cuisse ou psoas.	42	0	0	141
2° Inoculations de ganglions :					
Porcs tuberculeux généralisés.	2 ganglons (porc) ou 2 fragments (bœuf) pris 2 dans 2 ganglions symétriques et broyés ensemble.	9	2	6	21
Bovins tuberculeux généralisés.		44	11	36	105

Il est nécessaire de faire ressortir que, pour rechercher la

virulence musculaire et ganglionaaire, nous avons inoculé non seulement le suc, mais aussi des fragments des tissus, ce qui avait pour but de rendre plus certain le succès de l'épreuve ; des bacilles inclus dans des cellules ou fibres auraient pu n'être pas libérés en extrayant simplement le suc, et une inoculation qui aurait dû se montrer positive aurait pu être négative. C'est encore là une raison pour laquelle de semblables recherches, faites en extrayant à la presse le suc musculaire, ne peuvent être considérées comme démonstratives.

Etant données les conditions observées par nous, dans ce travail, nous croyons pouvoir conclure que : *les 60 résultats négatifs enregistrés avec le muscle nous autorisent à écrire que, pratiquement, dans les espèces considérées, ce tissu n'est pas virulent.*

Cette conclusion se trouve renforcée par cette autre, déjà signalée au début de ce travail : *l'inoculation sous-cutanée est incomparablement plus sévère que l'ingestion* d'après nos recherches chez plusieurs espèces. Et nous pensons : qu'en dehors du cas (extrêmement rare, pour ne pas dire inexistant chez l'animal) de lésions constituées et visibles, le muscle qui serait reconnu virulent par inoculation hypodermique, que cette virulence soit due au sang ou au muscle lui-même, ne recélerait vraisemblablement qu'un très faible nombre de bacilles et n'aurait aucune chance de communiquer la tuberculose par ingestion.

Dans la tuberculose spontanée il existe, certes, des bacillémies, et précisément tous nos sujets en portaient des traces évidentes et d'âges divers. Il faut donc admettre que ces infections sanguines ne font que traverser le muscle ou que celui-ci se débarrasse très rapidement de ses bacilles, conformément aux conclusions déjà anciennes de Nocard et de Mac Fadyean. Toutefois, cette dernière manière de voir nous semble la moins probable parce que le bacille tuberculeux résiste généralement plusieurs mois à la phagocytose.

Le muscle se montre donc particulièrement résistant à l'infection tuberculeuse ; sa virulence ne paraît être observée que lors de bacillémie expérimentale à dose forte, et, dans ce cas même, Nocard et Mac Fadyean l'ont vue disparaître en quelques jours. Lorsque la virulence musculaire est relevée, il

s'agit plutôt d'une virulence sanguine due à quelques bacilles arrêtés dans le riche réseau capillaire de ce tissu. Les quelques cas positifs rapportés chez le bœuf ou le porc peuvent fort bien provenir d'une erreur expérimentale.

Quant aux recherches faites chez l'homme mort de tuberculose, les cas de virulence du muscle doivent aussi, sans doute, être rattachés à la bacillémie concomitante, laquelle n'est pas rare, ainsi que cela est démontré par de récents travaux.

Nous savons, par d'autres constatations, que les lésions tuberculeuses musculaires, tout à fait exceptionnelles chez les animaux, sont généralement des lésions propagées par continuité à partir d'un os ou d'un ganglion fortement et anciennement lésés; la réaction est conjonctive et la fibre musculaire est passivement englobée dans le tissu inflammatoire dans lequel elle s'atrophie peu à peu et disparaît par phagocytose.

Les inoculations de muscle étant négatives, bien qu'il y reste une petite quantité de sang, dans nos recherches chez le bœuf et le porc, et cela dans 60 cas, nous en pouvons déduire que *la quantité de virus mobilisé par les bacillémies répétées, existant chez ces animaux, est faible*, puisqu'il n'y a pas imprégnation générale des tissus, ni même, comme nous venons de le rapporter, du système lymphatique.

Aussi dirons-nous par avance que nos conclusions ne peuvent être combattues à l'aide d'expériences consistant dans l'injection intraveineuse de doses importantes de virus naturel ou de cultures.

La virulence des ganglions apparemment sains n'est pas moins intéressante à enregistrer. Sa fréquence relativement grande est en rapport avec le *rôle de filtration et de défense du système lymphatique*. Cette virulence n'est cependant pas la règle, puisque nous ne l'avons relevée que dans un quart à peine des ganglions, ceux ci étant en outre inoculés par paires symétriques. Ces constatations nous démontrent à nouveau que, *même chez les sujets anciennement tuberculeux, et qui ont présenté plusieurs poussées bacillémiques, dont les unes sont récentes, notamment chez le porc, la maladie n'a pas déterminé une infection lymphatique générale; d'où il suit que, sauf exceptions, la bacillémie est peu abondante.*

Etant donné l'ensemble de ces résultats, chez des animaux

tuberculeux généralisés, dont une partie sont infectés depuis moins de 6 mois (porcs) et n'ont pas eu le temps de résorber leurs bacilles, nous pouvons en inférer que la tuberculose se présente ici à nous comme une *affection locale et qui tend toujours à se localiser*, ce qui, toutefois, ne nous autorise pas à nier, au contraire, les processus d'origine bacillémique; ces derniers sont des défaillances de la localisation; ils sont fréquents, mais, dans la règle, ils s'opèrent à petites doses, et l'organisme s'efforce de nouveau, nous en avons maintes preuves, de localiser l'infection et les lésions.

Nous sommes conduits à nous demander maintenant ce que deviendrait cette virulence ganglionnaire, en cas de survie des animaux, et si sa constatation ne va pas à l'encontre de nos assertions précédentes.

Dans des conditions analogues, divers auteurs ont prononcé le nom de *tuberculose occulte*, entendant par là que les bacilles pourraient rester en cet état un temps indéfini. Précédemment, Behring (1903, Congrès de Cassel) avait formulé l'hypothèse que la tuberculose est dans la règle contractée par ingestion, dans l'enfance chez l'homme, et dans le jeune âge chez les animaux, et qu'elle peut rester parfaitement latente jusqu'à l'âge adulte, c'est-à-dire ne créer aucune lésion visible, pour prendre ensuite, par l'effet de causes indéterminées, l'allure d'une infection tuberculeuse aiguë ou chronique. En vérité, cette opinion ne reposait sur aucun fait démonstratif, et elle n'avait même reçu aucun commencement de preuve.

Nous remarquerons tout d'abord que, lorsqu'on constate une tuberculose occulte, en l'absence de toute autre indication, on ne peut dire que cette tuberculose n'est pas en incubation normale ou retardée puisqu'on ignore la date de sa réalisation; or, la plupart, sinon la totalité, des faits signalés sous le nom de tuberculose occulte l'ont été dans ces conditions.

Dans d'autres recherches nous avons démontré qu'*un organisme neuf et réceptif peut résorber des bacilles tuberculeux de virulence normale introduits en petite quantité par voie intraveineuse* (1). Nous avons fait connaître, en outre, que le chien,

(1) P. Chaussé, La réinoculabilité de la tuberculose et la résistance acquise par l'organisme tuberculeux. *Revue de la tuberculose*, juin 1913.

si semblable à l'homme dans ses lésions tuberculeuses et dans son attitude à l'égard du bacille de Koch, résorbe également les bacilles hypervirulents humains ou bovins qu'il a absorbés par ingestion, et qui ont pénétré dans ses ganglions intestinaux (1). Enfin, par de récentes expériences inédites, nous avons pu nous rendre compte que le même animal résorbe les bacilles tuberculeux très virulents introduits par une voie quelconque, autre que l'ingestion. Le cobaye lui-même « digère » ou phagocyte des bacilles tuberculeux très virulents ou atténués, injectés dans sa circulation. Cela est également constaté par nous chez le lapin, et quelques travaux publiés par divers auteurs indiquent qu'il en est ainsi chez le bœuf.

La résorption des bacilles tuberculeux exige un délai de 8 à 10 mois environ, parfois un peu plus, car il s'agit là, comme on sait, d'un microbe particulièrement résistant à la phagocytose.

En somme, *ce processus de résorption bacillaire est général*, mais il est plus ou moins développé selon les espèces, et selon les qualités des bacilles. De deux choses l'une : le bacille crée des lésions, à évolution normale ou retardée, ou bien il est complètement phagocyté dans les délais ci-dessus.

Dans l'organisme neuf, comme dans l'organisme tuberculeux, le virus ne peut pas être complètement inactif, sinon nous voyons là la démonstration de son impuissance et sa résorption a lieu progressivement. En d'autres termes, il nous semble que l'équilibre ne peut pas exister entre ces deux forces opposées, qui sont : la virulence ou les qualités vitales du virus, et la tuberculo-résistance ou force défensive de l'organisme. L'évolution de l'infection est déterminée par le mode de pénétration, la quantité du virus, les infections antérieures ou concomitantes possibles, les qualités de l'agent infectieux, la résistance spécifique ou individuelle.

Nos avons acquis la certitude que, *dans l'organisme tuberculeux, parallèlement à la multiplication et à la dissémination*

(1) P. Chaussé. La tuberculose mésentérique occulte réalisée expérimentalement chez le chien. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 7 novembre 1910.

P. Chaussé. Dans les conditions normales le chien guérit sa tuberculose mésentérique occulte expérimentale. *Comptes rendus de l'Acad. dss Sciences*, 3 avril 1911.

bacillaires, il s'effectue un travail de destruction du virus. C'est seulement une partie des bacilles déversés dans la circulation, ceux qui se trouvaient peut-être plus nombreux en un point. ou protégés par du tissu mort, ou qui ont été portés dans un tissu plus propice au développement, qui créent des lésions visibles.

Tandis que tous les tissus sont atteints simultanément par la grande circulation et reçoivent des bacilles, ce sont seulement quelques-uns, présentant probablement des conditions de nutrition plus favorables pour le microbe, qui édifient des tubercules; ces tissus les plus aptes sont les poumons, le système lymphatique, le foie, la rate, les reins, les séreuses en général, la moelle osseuse, les épididymes.

Quand on fait des injections intra-veineuses de bacilles on échoue si l'on injecte de très petites doses, et on remarque, avec des doses moyennes, que le nombre des tubercules bacillémiques dans les organes est de beaucoup inférieur au nombre des bacilles injectés, ce qui prouve que ces bacilles sont phagocytés en grande partie.

Ainsi que MM. Calmette et Guérin (1), nous avons vu, d'autre part, que l'aptitude de l'organisme à résorber les bacilles injectés dans la circulation est plus développée chez les sujets tuberculeux que chez les sujets neufs. Cela indique que le sujet tuberculeux est partiellement vacciné contre la maladie, fait qui est aujourd'hui démontré rigoureusement.

Ce travail de résorption bacillaire, s'effectuant toujours concurremment avec les processus de multiplication des bacilles et d'extension des lésions, et les bacillémies se faisant par quantités limitées en général, nous comprenons pourquoi, chez les bovins tuberculeux au dernier degré, il reste une assez forte proportion de ganglions extra-splanchniques qui ne sont pas tuberculeux, et cela malgré l'ancienneté de l'infection, le développement considérable des lésions viscérales et la répétition des bacillémies. Ces dernières sont prouvées par les tubercules multiples et d'âges différents observés dans les organes principaux autres que le poumon, c'est-à-dire : le foie, la rate, les reins, la mamelle.

(1) Calmette et Guérin, *Annales de l'Institut Pasteur*, septembre 1908, p. 689.

Quant au devenir de la tuberculose ganglionnaire occulte, que nous venons de mettre en évidence chez les sujets tuberculeux, deux alternatives sont possibles, par conséquent :

1° Elle donnera des tubercules à évolution ralentie parce que l'organisme est partiellement vacciné; on trouve, en effet, assez fréquemment, de ces tubercules ganglionnaires anciens, très peu développés, malingres, ou enkystés ;

2° Elle disparaîtra, en 6 à 10 mois environ, par résorption des bacilles.

L'une et l'autre alternatives se réalisent selon les conditions existant en chaque point de l'organisme, et pour les raisons que nous venons d'indiquer.

Au point de vue pratique, nous conclurons :

1° Que, *chez les animaux tuberculeux, l'examen des ganglions extra-viscéraux doit être pratiqué dès qu'il y a doute sur l'existence de la généralisation.* Cet examen permettra de reconnaître la présence des tubercules constitués lorsqu'il en existera et renseignera sur la conduite à tenir ;

2° Que *la consommation du muscle des sujets atteints de lésions généralisées et massives ne présente pas de danger appréciable, même à l'état cru* ;

3° Par contre, *la consommation des ganglions lymphatiques apparemment sains n'est pas exempte de dangers lorsque ces ganglions sont insuffisamment cuits* ;

4° *La constatation assez fréquente de la bacillose occulte des ganglions musculaires nous engage à être plus sévères à l'égard des sujets porteurs de lésions viscérales importantes.* Il convient toutefois de ne pas exagérer le danger et de se rappeler que l'ingestion est un mode d'infection très infidèle, exigeant de fortes doses de virus. C'est par un excès de prudence, justifié à l'égard de l'être humain, que nous écrivons qu'il faut être plutôt sévère à l'égard des animaux tuberculeux avancés.

Le législateur a donc eu raison de permettre, après enlèvement des ganglions et stérilisation, la consommation des viandes provenant d'animaux tuberculeux. Mais, en temps normal, la plus grande partie, sinon la totalité de ces viandes sont perdues en France.

A part trois ou quatre grandes villes la quantité des viandes, saisies pour tuberculose dans les abattoirs est insuffisante pour

alimenter régulièrement, dans chaque agglomération, un établissement spécial de vente à bas prix et après stérilisation ; d'autre part, cette manière de procéder heurte des préjugés sociaux contre lesquels nous serons toujours impuissants malgré toutes les preuves scientifiques.

Pour l'utilisation de ces viandes la meilleure solution nous paraît être qu'elles soient acquises par l'État, à prix réduit, ce qui pourrait remplacer l'indemnité. Ces viandes seraient transformées en conserves, et ces dernières seraient consommées dans les établissements pénitentiaires. Pour effectuer ce travail d'une manière économique et rationnelle les viandes de qualité suffisante seraient adressées, de tous les lieux de saisies, après épluchage et sous certaines conditions, à un seul établissement spécial chargé de cette préparation pour toute la France.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1° **Muscle.**

ARLOING et CHAUVEAU. — Congrès vétérinaire, 1885; cités par S. ARLOING, *Journ. de méd. vétér.*, 1888, p. 505.

BANG. — Congrès d'hygiène de Londres, 1891-1892.

BOLLINGER. — Versamml. deutsch. Naturforscher und Ærzte zu Bremen, 1890. *Centralbl. f. allg. Pathol. und path. Anat.*, vol. I, n° 21, p. 677; — *Münchn. med. Woch.*, 1893.

MAC FADYEAN. — *Journ. of comp. Pathol. and Therap.*, 1892.

FORSTER. — *Münchn. med. Woch.*, 1890, n° 16.

GALTIER. — *Traité des maladies contagieuses*, 1879-1881, p. 575; Congrès contre la tuberculose, 1888; *Journ. de méd. vétér.*, 1888, p. 342 : 1891-1892.

GRATIA et LIÉNAUX. — *Ann. de méd. vétérinaire*, 1888.

HAGEMANN. — *Inaugural Dissertation*. München, 1893.

HOEFNAGEL. — *Tijdschrift voor Veeartsneykunde*, juin 1905; — *Revue génér. de méd. vétérinaire*, 1906, VII, p. 87.

KASTNER. — *Münchn. med. Woch.*, 1899, n°s 34 et 35, et 1892, n° 20.

LECLAINCHE. — *Revue de la tuberculose*, 1894, p. 133; — *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1896, p. 1013.

S. MARTIN. — Rapport de la Commission royale anglaise contre la tuberculose, in *Journ. of Path. and Therap.*, 1895.

NOCARD. — *Bull. de la Soc. centrale de méd. vétér.*, 1880; Congrès contre la tuberculose, 1888; *Recueil d'Alfort*, 1888, p. 576.

OSTERTAG. — *Zeitschr. für Fleisch-und Milchhygiene*, 1891-1892, p. 1.

PERRONCITO. — Congrès contre la tuberculose, 1891; — *Centralbl. f. Bakt.*, vol. XI, 1892, p. 429; — cité par NOCARD, dans les *Tuberculoses animales*, Paris, 1895, p. 138.

PEUCH. — Congrès contre la tuberculose, 1888.

Steinheil. — *Münchn. med. Woch.*, 1889, p. 689.
Strauss. — *La tuberculose et son bacille*, Paris, 1895.
Ströse. — *Zeitschr. für Fleisch-und Milchhygiene*, 1894-1895, p. 52.
Stubbe. — Congrès international de médecine vétérinaire, 1888.
Thomassen. — Congrès contre la tuberculose, 1898; — *Revue vétérinaire*, 1898, p. 610.
Toussaint. — *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1880.
Veyssière et Humbert. — Congrès contre la tuberculose, 1888.
Westenhoeffer. — *Zeitschr. für Fleisch-und Milchhygiene*, 1904-1905, p. 30.

2° Ganglions.

S. Arloing. — *Journ. de méd. vétér.*, avril 1909.
Galtier. — *Journ. de méd. vétér.* 1888, p. 342.
Joest, Noack et Liebrecht. — *Zeitschr. für Infekt. d. Haustiere*, 1907. III, p. 257.
Linnenbrink. — *Inaugural Dissertation*, Bern, 1909.
H. J. Smit. — *Inaugural Dissertation*, Bern, 1909.

SUR LES TÉTANOS POST-SÉRIQUES

par AUGUSTE LUMIÈRE.

M. Montais a publié dans les *Annales de l'Institut Pasteur* (1) une note fort intéressante montrant que le tétanos précoce, avec la forme classique qu'il affectait au début de la guerre, devient de moins en moins fréquent au fur et à mesure que la sérothérapie préventive est plus régulièrement et plus méthodiquement appliquée.

Cet auteur observe que l'immunité conférée par les injections de sérum antitétanique pratiquées chez presque tous les blessés n'est point absolue et n'est susceptible d'exercer son efficacité maximum que pendant quelques jours. Il rapporte un certain nombre de cas de tétanos ayant présenté une allure clinique et une symptomatologie toutes particulières, soit par le fait de l'usure de l'antitoxine dans l'organisme, soit chez des malades ayant reçu des doses de sérum insuffisantes par rapport aux quantités de toxines sécrétées au niveau des plaies.

M. Montais a particulièrement commenté les cas de tétanos post-sériques sans trismus dont il a rassemblé 21 observations empruntées à MM. Curtillet et Lombard, Pozzi, Laval, Bernsley et Mercier, Monod, Routier, René Le Fort, Vincent et Wilhelm, Meriel, Courteaud, Borrel, Rauzier et Estor.

Ayant eu l'occasion d'observer et de suivre la plupart des cas de tétanos survenus dans les hôpitaux de l'agglomération lyonnaise, évacués dans des salles d'isolement spéciales de l'Hôtel-Dieu et rattachées au service du professeur Bérard, nous avons pu réunir 54 cas de tétanos post-sériques dont l'étude nous permet de préciser un certain nombre de questions relatives à la pathogénie et à la symptomatologie de ces formes particulières de la maladie.

Nous avons divisé ces 54 cas en trois classes, suivant que la symptomatologie s'écarte davantage de celle du type commun,

(1) Ces *Annales*, t. XXX, juillet 1916, n° 7, p. 330.

en nous basant sur l'absence, l'atténuation ou l'existence d'un des symptômes principaux du tétanos classique : le trismus.

Chez ces 54 blessés injectés préventivement et ayant néanmoins contracté le tétanos, nous avons constaté 15 fois l'absence complète du trismus, 13 fois l'apparition tardive du

NUMÉROS des observations	NOMS	DATES DES BLESSURES et des INJECTIONS DE SÉRUM	NATURE DES BLESSURES	PREMIERS SYMPTOMES DURÉE D'INCUBATION
				I. — TÉTANOS POST-SÉRIQU
1	D... (Marcel). 52e inf.	Blessé le 20 janvier 1915. Injection de sérum le lendemain. 2e piqûre, le 26 janvier.	Plaie en séton, par éclats d'obus, de la jambe gauche.	16 février 1915. 27 jours après la bl sure.
2	V,.. (Marcel), 325e inf.	Blessé le 14 février 1915. 2 injections de sérum le lendemain de la blessure.	Plaie en séton, par éclats d'obus, des parties molles de la cuisse gauche.	8 mars 1915. 22 jours après la bl sure.
3	P... (Lazare), 29e inf.	Blessé le 14 mai 1915. Injection de sérum immédiatement après la blessure.	Plaie, par éclats d'obus, de la cuisse droite, avec fracture du fémur.	24 mai 1915. 10 jours après la bl sure.
4	V... (Marius), maréchal des logis, 6e art.	Blessé le 4 octobre 1915. Injection de sérum 5 heures après la blessure.	Plaie, par shrapnel, de la face postéro-externe de la jambe droite avec fracture du péroné.	16 octobre 1915. 12 jours après la bl sure et 8 jours ap une intervention seco daire.
5	S... (Frédéric), 343e inf.	Blessé le 18 décembre 1915. Sérum, le même jour.	Plaies superficielles des deux jambes, éclats extraits, cicatrisées le 15 janvier.	14 janvier 1916. 27 jours après la bl sure.
6	M... (Cyprien), 23e art.	Blessé le 6 mars 1916. Sérum le même jour 2e injection, le lendemain.	Plaies multiples, par éclats d'obus, genou gauche, hémithorax gauche, jambes et cuisses. Pleurésie purulente consécutive.	2 avril 1916. 27 jours après la bl sure. 5 jours après une i tervention secondai

trismus ou l'existence d'un trismus atténué et 26 fois l'éclosion de ce symptôme d'emblée avec l'intensité qu'il présente dans le tétanos précoce commun.

Nous résumons dans le tableau ci-dessous les éléments principaux de nos 54 observations.

SYMPTOMES TÉTANIQUES	TRAITEMENT ÉVOLUTION	OBSERVATIONS
…NS TRISMUS.		
Contractures permanentes … la cuisse gauche en abduc-…n et flexion, sueurs pro-…ses, crises spasmodiques, …s de fièvre.	Injection intraveineuse de persulfate de soude, sérum antitétanique. Guérison, fin avril, en 70 jours.	Agitation extrême à l'arrivée dans le service. Remplacement du chloral par le persulfate, l'agitation cesse et les crises sont supprimées.
…ntractures permanentes … triceps, exagération du …flexe rotulien, quelques …asmes, pas de fièvre.	Injection de persulfate et de sérum. Guérison, fin avril, en 50 jours.	
Contractures localisées au …embre inférieur droit, se …néralisant rapidement, cri-…s violentes, sueurs, exagé-…tion des réflexes, hyper-…ermie.	Injection de persulfate. Mort, en 48 heures.	Les injections de persulfate suppriment les crises convulsives, les contractures permanentes subsistent et gagnent progressivement les muscles de la respiration.
Crises de contractures con-…uelles localisées à la jambe …oite. Hyperthermie.	Persulfate. Sérum antitétanique. Mort, le 23 octobre.	Tétanos postopératoire. Mort par septicopyohémie sans symptômes tétaniques, les spasmes ayant cédé complètement à la 3e injection intraveineuse de persulfate.
Contractures permanentes … la jambe droite sans …asmes.	Injections de sérum répétées. Guérison, fin janvier 1916, en 40 jours.	
Contractions spasmodiques …calisées aux membres infé-…urs. Hyperthermie.	Persulfate qui supprime les crises. Mort, le 6 avril 1916.	Tétanos postopératoire. Mort sans symptômes tétaniques, 4 jours après le début des crises. L'autopsie a montré que le blessé avait succombé à une septicopyohémie.

NUMÉROS des observations	NOMS	DATES DES BLESSURES et des INJECTIONS DE SÉRUM	NATURE DES BLESSURES	PREMIERS SYMPTOMES DURÉE D'INCUBATION
7	T... (Denis) 24e colonial	Blessé le 5 octobre 1915. Sérum le lendemain.	Plaie, en séton, par balle, du bras gauche, avec fracture de l'humérus, pas de lésion nerveuse	5 novembre 1915. 31 jours après la bl sure.
8	D.. (Alfred). 53e inf.	Blessé le 27 mai 1916. Sérum le lendemain.	Plaie, par éclats d'obus, de la jambe gauche, région supéro-externe, éclat extrait, et plaie de la cuisse droite.	12 juin 1916. 16 jours après la bl sure. 12 jours après l' traction de l'éclat.
9	B. S.., 1er tirail. algérien.	Blessé le 18 mai 1916. Injection de sérum, le 26, 8 jours après.	Plaies multiples des jambes, cuisses et fesses par éclats d'obus, un gros éclat non extrait, plaies cicatrisées.	16 juin 1916. 29 jours après la bl sure. 21 jours après l'inj tion de sérum.
10	L... (Ernest), 6e inf.	Blessé le 26 juin 1916. Injection de sérum, le lendemain.	Plaies multiples par éclats d'obus, du bras droit, de la jambe gauche, de la région axillaire droite. Tatouage superficiel de la cuisse gauche, par très petits éclats.	3 juillet 1916. 7 jours après la bl sure.
11	D.. (Auguste), Régiment colonial du Maroc.	Blessé le 11 juin 1916. Injection de sérum, le lendemain.	Plaies multiples de la fesse droite, par éclats d'obus, cicatrisées fin juin, éclats non extraits.	10 juillet 1916. 30 jours après la bl sure.
12	D .. (Claude), 297e inf.	Blessé le 29 juin 1916. Injection de sérum, 24 heures après la blessure.	Plaie, par éclat d'obus, à un seul orifice, cuisse gauche. Petite plaie jambe droite.	17 juillet 1916. 18 jours après la b sure. 11 jours après ext tion du projectile.
13	L... (Paul), 107e chas.	Blessé le 27 septembre 1915. Injection de sérum immédiatement.	Plaies multiples du membre inférieur gauche, par balle et par éclat d'obus.	4 octobre 1915. 7 jours après la b sure, puis rechute jours après la bless 18 jours après in vention secondaire.

SYMPTOMES TÉTANIQUES	TRAITEMENT ÉVOLUTION	OBSERVATIONS
Douleurs vives du bras, puis contractures spasmodiques localisées à ce bras. Pas de fièvre.	Persulfate, sérum. Les crises sont rapidement supprimées. Guérison, fin juin 1916, en 230 jours.	La contracture permanente a persisté pendant 8 mois.
Contractures et douleurs localisées à la jambe et à la cuisse gauches, sueurs, hyperthermie, exagération du réflexe rotulien à droite.	30 cent. cubes de sérum répétés pendant 3 jours. Persulfate deux fois par jour. Guérison.	Un peu de raideur du membre inférieur gauche persiste encore fin août.
Contractures permanentes du membre inférieur droit. Crises violentes d'opisthotonos, sueurs, hyperthermie, état grave.	Injection de persulfate 2 fois par jour, 30 cent. cubes sérum, pendant 3 jours. Guérison, fin août, en 75 jours.	Les contractures ont cédé dès le 2e jour aux injections de persulfate. Extraction des projectiles en août, après nouvelle injection de sérum, suites normales.
Contracture permanente du membre inférieur gauche avec quelques spasmes douloureux.	Persulfate et sérum. Guérison, fin août, en 60 jours.	Ce tétanos localisé frappe le membre inférieur gauche, qui n'avait que des blessures punctiformes insignifiantes.
Contracture du membre inférieur droit avec subœdème, crises, exagération des réflexes, hyperthermie, sueurs profuses.	Persulfate et sérum. Amélioration progressive. Guérison, fin août.	Extraction des éclats. Suites normales. A la surface de l'un des éclats on a trouvé, par culture, du bacille du tétanos, confirmé par inoculation.
Contractures permanentes de la jambe et de la cuisse gauches, avec spasmes très douloureux et très violents. Exagération des réflexes, sueurs, hyperthermie, état grave.	Persulfate, sérum, cryogénine. Amélioration rapide. Guérison, 15 septembre.	Tétanos postopératoire.
Crampes douloureuses des membres inférieurs et principalement de la cuisse et de la jambe gauches.	Sérum. Intervention tardive accompagnée d'injection nouvelle. Rechute de tétanos, 18 jours plus tard, 84 jours après la blessure et 77 jours après la première atteinte. Mêmes symptômes. Guérison, en avril.	Observation communiquée par M. le Dr Cotte.

NUMÉROS des observations	NOMS	DATES DES BLESSURES et des INJECTIONS DE SÉRUM	NATURE DES BLESSURES	PREMIERS SYMPTOMES DURÉE D'INCUBATION
14	H. Mu... 2e tiraill, indigènes.	Blessé le 16 janvier 1916. Injection de sérum immédiatement.	Plaies des parties molles de l'hémithorax gauche, sans lésion costale, ni pulmonaire. Eclat non extrait.	4 septembre 1916. 80 jours après la blessure.
15	R... (Albert), 289e inf.	Blessé le 28 août 1916. 1re injection, le 28. 2e injection, le 29.	Eclatement du globe oculaire Gros éclat logé dans les muscles lombaires, fracture des apophyses épineuses. Plaies de la cuisse et de la fesse droites. Extraction des éclats.	5 septembre 1916. 8 jours après la blessure.
			II. — TÉTANOS POST-SÉRIQUES AVEC	
16	B... (Marius), 16e inf.	Blessé le 24 septembre 1914. Injection de sérum, le 27.	Plaies pénétrantes, anfractueuses, par éclats d'obus, de la partie supérieure de la jambe gauche, très infectées.	20 octobre 1914. 8 jours, après la blessure.
17	A... (Pierre), 44e colon.	Blessé le 23 septembre 1914. Injection de sérum, le 25.	Plaie superficielle, par éclat d'obus, de la région lombaire gauche, petite plaie de la région temporale droite, superficielle, infectée.	5 octobre 1914. 11 jours après la blessure.
18	G... (Louis).	Blessé le 5 septembre 1915. Injection de sérum le 8 septembre.	Plaie, par éclat d'obus, région sus-trochantérienne gauche, à un seul orifice. Extraction d'un projectile, le 12.	23 septembre 1914. 18 jours après la blessure. 6 jours après l'intervention.
19	C... Pierre, 80e inf.	Blessé le 5 octobre 1914. Injection de sérum, le 6 octobre.	Plaie, par éclat d'obus, du cou-de-pied. Astragalectomie, le 9 octobre.	21 novembre 1914. 47 jours après la blessure. 43 jours après intervention.

SYMPTOMES TÉTANIQUES	TRAITEMENT ÉVOLUTION	OBSERVATIONS
ouleurs vives dans la en dorso-lombaire, rai de la nuque, contracture muscles abdominaux et membres inférieurs. Cri- spasmodiques, violentes rs, pas de fièvre.	Persulfate et sérum. Extraction d'un gros éclat 3 jours après l'éclosion des premiers symptômes. Amélioration rapide. Guérison.	
ontractures permanentes jambe et de la cuisse tes. Secousses se succé toutes les 2 ou 3 secon-, crampes violentes dou- euses du mollet, sueurs, gération du réflexe rotu-, trépidation épileptoïde, de fièvre.	Sérum 30 cent. cubes pendant 3 jours. Injection de persulfate matin et soir. Les crises cessent rapidement, mais l'état s'aggrave progressivement. Mort, le 29 septembre 1916.	Tétanos acompagné tout d'abord d'excitation cérébrale et se terminant par une méningite. Infection ayant comme origine la blessure lombaire.
ISMUS ATTÉNUÉ OU RETARDÉ		
éger trismus, douleur ex- mement vive au niveau de blessure. Crises spasmo- ues violentes, cris, agita-, sueurs, hyperthermie.	Persulfate qui supprime les crises. Amélioration. Le 11 octobre, débridement. Meurt d'un accident d'anesthésie, au cours de l'intervention.	Mort 12 jours après les premiers symptômes de tétanos en bonne voie de guérison, par syncope cardiaque, au cours de l'administration du chlorure d'éthyle.
Un peu de trismus, de rai- ır des jambes, exagération réflexes, trépidation épi- toïde, pas de sueurs, hy- thermie.	Sérum, persulfate. Amélioration rapide. Guérison en trois semaines.	
Un peu de trismus, exagé- ion des réflexes, contrac- e permanente de la jambe. perthermie.	Persulfate, sérum. Guérison, en 15 jours.	Tétanos postopératoire.
Trismus apparu secondai- ment après les contractures ales de la jambe, douleurs es, spasmes, sueurs, exa- ration des réflexes, dys- agie.	La plaie était très fétide, pansement au chlorure de chaux. Injection de persulfate, qui fait cesser les crises. Etat général mauvais. Mort le 3 décembre 1914, en 12 jours.	Mort par asphyxie, sans contractures spasmodiques.

NUMÉROS des observations	NOMS	DATES DES BLESSURES et des INJECTIONS DE SÉRUM	NATURE DES BLESSURES	PREMIERS SYMPT[illegible] DURÉE D'INCUBA[illegible]
20	C.. (Pierre), 27e chas.	Blessé le 21 janvier 1915. Injection de sérum, le même jour.	Abrasion des parties molles du bras gauche, avec perte de substance importante ; la même balle, après ricochet frappe le blessé au niveau de la crête iliaque. Extraction de la balle.	21 novembre 1[illegible] 47 jours ap[illegible] blessure. 43 jours aprè[illegible] vention.
21	Ch... (Jules) 368e inf.	Blessé le 1er juin 1915. Injection de sérum, le même jour.	Blessures multiples, par éclats d'obus, de la cuisse gauche, de la cuisse droite, et de la tête. Extraction d'éclats le 12 et le 30 juin.	3 juillet 1915. 3[illegible] jours après [illegible]sure. 3 jours après [illegible]tractions.
22	B... (Jules), 185e inf.	Blessé le 5 juin 1915. Deux injections de sérum, le jour de la blessure.	Plaie de l'œil droit. Plaie du cuir chevelu. Plaie de la cuisse gauche par éclats d'obus.	6 août 1915. 6[illegible] jours après [illegible]sure. 20 jours aprè[illegible] vention seconda[illegible]
23	N... (Jules), 81e inf.	Blessé le 29 septembre 1915. 1re injection, le jour de la blessure. 2e, le 8 octobre.	Plaie par shrapnell, au niveau de la tête de l'humérus gauche. articulation peu douloureuse, un peu d'œdème. projectile non extrait.	12 octobre 191[illegible] 13 jours après [illegible]sure.
24	B... (Émile), 35e colon.	Blessé le 12 août 1915. 1re piqûre de sérum, le jour même. 2e, le lendemain.	Plaies multiples par éclats d'obus de la jambe droite, séton de la cuisse droite, plaie de l'avant-bras droit et du thorax. Eclats extraits.	1er novembre [illegible] 60 jours après [illegible]sure 8 jours aprè[illegible] levé et avoir ma[illegible]
25	P.., (Henri), 76e inf.	Blessé le 14 octobre 1915. Injection de sérum, le lendemain.	Plaie, par éclat d'obus, du dos du pied droit, articulation tibio-tarsienne indemne.	7 janvier 1916. 84 jours après [illegible]sure. 7 jours après a[illegible] du drain.

SYMPTOMES TÉTANIQUES	TRAITEMENT ÉVOLUTION	OBSERVATIONS
Léger trismus, contracture le la jambe gauche, des nuscles abdominaux, exagération des réflexes, crises loulou reuses, fréquentes, localisées.	Traité par le persulfate, une injection intraveineuse supprime les crises. Mort le 26, en 8 jours.	Tétanos tardif postopératoire.
Un peu de trismus, contracture permanente de la jambe et de la cuisse droites, rire sardonique, quelques spasmes localisés.	Sérum antitétanique, pendant 3 jours 30 cent. cubes. Persulfate. Guérison, fin août.	Tétanos tardif postopératoire.
Secousses dans le membre nférieur gauche, contractures permanentes, un peu de rismus et de raideur de la nuque, exagération du réflexe otulien, trépidation épileptoïde, sueurs.	Traité par le persulfate et le sérum. A eu des abcès à répétition, à plusieurs mois d'intervalle, au niveau de la plaie de la cuisse. Guérison.	Tétanos tardif postopératoire. A eu 4 rechutes de tétanos après formations d'abcès. Elimination d'un petit éclat et de débris de vêtement avant la dernière rechute.
Contractures permanentes du bras et de l'avant-bras en lexion. Léger trismus, raideur de la nuque, sueurs profuses, très abondantes, crises fréquentes, mais peu violentes. Hyperthermie.	Les injections de persulfate font cesser les crises, mais la contracture permanente s'étend ; le blessé prend un teint plombé. Meurt, le 14 octobre, en 48 heures.	Mort par asphyxie, sans crises.
Léger trismus, contracture des muscles de la face, contractures permanentes du membre inférieur droit, crises spasmodiques violentes, opisthotonos, sueurs profuses, pas de fièvre.	Même traitement, les crises cessent en 48 heures. Guérison, fin janvier 1916. 3 mois après le début des symptômes.	Tétanos tardif. La marche paraît avoir libéré les spores tétaniques.
Léger trismus, facies grimaçant, un peu de contracture permanente du membre inférieur droit, aucun autre symptôme.	Sérum répété, 30 cent. cubes pendant 3 jours. Guérison, le 6 mars, en 60 jours.	Tétanos tardif postopératoire.

NUMÉROS des observations	NOMS	DATES DES BLESSURES et des INJECTIONS DE SÉRUM	NATURE DES BLESSURES	PREMIERS SYMPTOMES DURÉE D'INCUBATION
26	V... (Paul), 259e inf.	Blessé le 6 mars 1915. Injection de sérum immédiate.	Gelure profonde des deux pieds. Plaies très infectées et fétides.	26 mars 1916. 19 jours après la blessure.
27	B... (David), caporal, 3e mixte zouaves et tirail.	Blessé le 18 mai 1916. Injection de sérum le 19.	Plaie, par éclat d'obus, de la cuisse droite. Eclat extrait.	6 août 1916. 80 jours après la blessure.
28	V... C... (Pierre), colonial du Maroc.	Blessé le 21 juillet 1916. Injection de sérum, le même jour.	Petites plaies multiples de la cuisse droite, du coude, du bras droit, de la région cervicale.	1er septembre. 41 jours après la blessure et 8 jours après mécanothérapie.

III. — TÉTANOS POST-SÉRIQUES

29	T... (Célestin), 356e inf.	Blessé le 22 septembre 1914. Injection de sérum, le 27.	Plaie en séton, par éclat d'obus, du genou gauche, n'ayant intéressé que les parties molles.	5 octobre 1914. 13 jours après la blessure. 8 jours après l'injection.
30	D... (Albert), 152e inf.	Blessé le 23 septembre 1914. Injection de sérum, le 26.	Plaie par éclat d'obus, du gros orteil, pied gauche, éclatement de la phalange.	25 octobre 1914. 32 jours après la blessure.
31	M... (Auguste), 152e inf.	Blessé le 21 septembre 1914. Sérum, 48 heures après la blessure.	Plaie, par éclat d'obus, de la face externe du pied gauche sans lésion osseuse.	26 novembre 1914. 35 jours après la blessure.

SYMPTOMES TÉTANIQUES	TRAITEMENT ÉVOLUTION	OBSERVATIONS
Un peu de trismus et de raideur de la nuque, rire sardonique, crises spasmodiques, rythmées, localisées aux membres inférieurs, hyperthermie.	Désinfection des plaies au chlorure de chaux, en 48 heures, changement complet d'aspect et désodorisation. Sérum, persulfate, les crises cessent. Evolution fatale en un mois.	Mort de septicopyohémie confirmée par l'autopsie. Guéri de son tétanos.
Léger trismus, raideur de la nuque, rictus, exagération du réflexe rotulien, pas d'autres symptômes.	Sérum à doses de 30 cent. cubes. 3 jours consécutifs. Guérison, 15 septembre.	
Contracture permanente du membre inférieur droit. puis trismus 8 jours plus tard, quelques spasmes, exagération du réflexe, trépidation épileptoïde, sueurs.	Sérum répété 18 jours après les premiers symptômes. Guérison.	Tétanos méconnu. considéré comme une psychopathie Envoyé à l'isolement, 18 jours après les premiers symptômes.

AVEC TRISMUS

Trismus, exagération du réflexe, trépidation épileptoïde, sueurs, légère contracture permanente des membres inférieurs, spasmes.	Persulfate et sérum. Amélioration progressive rapide. Guérison, en un mois.	
Trismus, raideur de la nuque, contracture permanente des muscles abdominaux, quelques crises, sueurs.	Même traitement. Suppression des crises, généralisation des contractures permanentes. Mort, le 29 octobre, en 4 jours.	
Trismus, exagération du réflexe rotulien. trépidation épileptoïde, contracture permanente des muscles abdominaux et des membres inférieurs, hyperthermie, sueurs.	Même traitement. Suppression des crises, mais état général de plus en plus mauvais. Mort le 24 décembre. Evolution lente, fatale, en 28 jours.	Injection de sérum tardive. 5 jours après la blessure Tétanos postopératoire.

NUMÉROS des observations	NOMS	DATES DES BLESSURES et des INJECTIONS DE SÉRUM	NATURE DES BLESSURES	PREMIERS SYMPTOMES DURÉE D'INCUBATION
32	A... (François), 95e inf.	Blessé le 1er décembre 1914. Injection de sérum, le 4, 3 jours après la blessure.	Plaie, par éclat d'obus, de la région tibiale supérieure très infectée.	7 décembre 1914. 6 jours après la blessure.
33	M... (Louis), 29e inf.	Blessé le 19 novembre 1914 Injection de sérum, le 24, 5 jours après la blessure.	Plaie, par éclat d'obus, de la face interne du mollet droit au tiers inférieur très infectée. Extraction de l'éclat et drainage le 23 novembre.	5 décembre 1914. 26 jours après la blessure et 12 jours après l'intervention.
34	B... (Arthur),	Blessé le 28 décembre 1914. Injection de sérum, le lendemain.	Plaies du genou gauche ayant nécessité une amputation de la cuisse. Régularisation du moignon le 9 février 1915.	17 février 1915. 15 jours après la blessure et 8 jours après l'intervention secondaire.
35	C... Benoît.	Blessé le 26 février 1915. Injection de sérum immédiate.	Plaie, par éclat d'obus, à un seul orifice, de la jambe droite avec fracture compliquée des deux os.	7 mars 1915. 8 jours après la blessure.
36	L... Marcel, 167e inf.	Blessé le 30 mars 1915. Injection de sérum, le 1er avril.	Plaies multiples, par éclats d'obus, fracture compliquée du péron droit, dénudation de l'humérus droit. Plaie de la hanche droite et de la fesse gauche. Entorse du genou droit avec hémarthrose. Amputation, le 10 avril.	24 avril. 25 jours après la blessure et 14 jours après l'amputation.

SYMPTOMES TÉTANIQUES	TRAITEMENT ÉVOLUTION	OBSERVATIONS
Trismus, raideur de la ıque, exagération des ré- ›xes, contractures généra- ;ées avec crises fréquentes, ıeurs.	Même traitement. Mort en deux jours.	Injection de sérum tardive, 3 jours après la blessure.
Trismus, raideur de la nu- ıe, exagération du réflexe ›tulien.	30 cent. cubes de sérum antitétanique pendant 3 jours. Amélioration rapide. Guérison, fin décembre, en moins d'un mois.	L'unique injection de sérum n'a été faite que le lendemain de l'intervention, au cours de laquelle le blessé a été vraisemblablement infecté. Tétanos très bénin postopératoire.
Trismus, raideur de la nu- ue, contracture des muscles bdominaux, sueurs, spasmes u moignon se généralisant, ·épidation épileptoïde.	30 cent. cubes de sérum, pendant 3 jours. Injection de persulfate. Les crises disparaissent, mais l'état général devient de plus en plus mauvais et les contractures permanentes augmentent. Mort, le 27 février, évolution en 7 jours.	Tétanos tardif postopératoire. Meurt par asphyxie avec plaie opératoire en excellente voie.
Trismus, raideur de la nu- ue, exagération du réflexe otulien, trépidation épilep oïde, crises de contractures pasmodiques, d'abord loca es, puis généralisées, état ;rave, hyperthermie.	Nettoyage de la plaie, de débris de vêtement dans lesquels on trouve du bacille de tétanos. Injections de sérum répétées et de persulfate. Amélioration progressive. Suppression des crises en 2 jours. Guéri, fin avril, en 60 jours.	Forme sévère, améliorée, très rapidement par les injections de persulfate de soude.
Trismus, raideur de la nu- ıue, secousses spasmodiques lans le moignon avec ten- lance à la généralisation.	Même traitement, les crises cessent complètement, mais l'état général devient de plus en plus mauvais, teint plombé, grandes oscillations thermiques Mort le 5 avril.	Tétanos postopératoire. A succombé à une septicopyohémie ainsi que l'autopsie l'a confirmé.

Numéros des observations	NOMS	DATES DES BLESSURES et des INJECTIONS DE SÉRUM	NATURE DES BLESSURES	PREMIERS SYMPTOMES DURÉE D'INCUBATION
37	V... (Joseph), 359e inf.	Blessé le 3 février 1915. Injection de sérum, le 5.	Séton du mollet gauche par éclat d'obus. Plaie pénétrante de la fesse droite très infectée, arthrite suppurée de la hanche ayant nécessité une résection le 2 avril.	12 avril. 68 jours après la blessure et 10 jours après la résection.
38	C... (Félix).	Blessé le 28 février 1915. Injection de sérum, le même jour.	Plaies multiples, par éclats d'obus, de la jambe droite, du bras droit (fracture), pied droit, fesse gauche. Le 11 mai, extraction d'éclats.	25 mai. 86 jours après la blessure et 14 jours après l'intervention tardive.
39	S... (Anatole), 36e colonial.	Blessé le 4 juillet 1915. Injection de sérum immédiate.	Plaie contuse du coude et de l'avant-bras droit, par éclat d'obus. Drainage du coude, le 9 juillet.	20 juillet. 16 jours après la blessure. 11 jours après le drainage.
40	E... (Lucien), 121e chass.	Blessé le 13 juillet 1915. Injection de sérum, le même jour.	Plaie pénétrante de la fesse droite, par éclat d'obus. Extraction de l'éclat, le 14 août.	20 août. 38 jours après la blessure et 6 jours après l'extraction du projectile.
41	S... (René), maréchal des logis, 4e artillerie.	Blessé le 12 août 1915. Injection de sérum, le jour de la blessure.	Plaies multiples, par éclats d'obus du bras droit, de la cuisse et de la jambe droites, de la cuisse et de la jambe gauches. Amputation de la cuisse droite le 20 août.	19 septembre 1915. 38 jours après la blessure et 30 jours après l'amputation.
42	C... (René), 161e inf.	Blessé le 30 septembre 1915. Injection de sérum, le même jour.	Plaie, par éclat de 75, du bras droit, fracture de l'humérus. Extraction du projectile, le 12 octobre.	4 novembre 1915. 35 jours après la blessure et 23 jours après l'intervention.

SYMPTOMES TÉTANIQUES	TRAITEMENT — ÉVOLUTION	OBSERVATIONS
Trismus, raideur de la nu-ue, contractures spasmodi-ues douloureuses de la ımbe.	Même traitement, très rapide amélioration. Guérison, le 15 mai, en 33 jours environ.	Tétanos tardif postopératoire.
Trismus, raideur de la nu-ue, contracture permanente onsidérable des muscles bdominaux, hallucinations octurnes, cris, teint plombé, xagération des réflexes, pas e fièvre.	Injection de persulfate qui supprime les crises, mais évolution fatale en 31 jours. Contracture progressive lente finissant par atteindre les muscles de la respiration. Mort, le 26 juin.	Tétanos tardif postopératoire.
Trismus, raideur de la nu-ue, contracture permanente u membre supérieur droit, vec secousses douloureuses, ysphagie, sueurs, exagéra-ion des réflexes, hyperther-ıie.	Injection de persulfate. La maladie évolue sans crises fatalement en 17 jours. Meurt par asphyxie, le 6 août 1915.	Tétanos postopératoire.
Trismus, contracture per-ıanente de la jambe et des ıuscles abdominaux se gé-éralisant, quelques secous-es, exagération des réflexes, ueurs.	Injection de persulfate et de sérum. Les contractures permanentes gagnent progressivement les muscles respiratoires. Meurt en 8 jours, le 28 août.	Tétanos postopératoire.
Trismus, raideur de la nu-ue, exagération des réflexes, ıas d'autres symptômes, pas le fièvre.	Injections de sérum répétées. Pansement des plaies fétides au chlorure de chaux, désodorisation en 48 heures. Guérison, le 20 décembre, au bout de 3 mois.	Forme bénigne.
Trismus, raideur de la nu-ue, contracture permanente es membres inférieurs et des ıuscles abdominaux et lom-ıaires, exagération des ré-lexes, sueurs, pas de spasmes.	Injections répétées de sérum antitétanique, la contracture permanente se généralise progressivement. Evolution fatale en 13 jours. Mort le 17 novembre.	Tétanos postopératoire.

NUMÉROS des observations	NOMS	DATES DES BLESSURES et des INJECTIONS DE SÉRUM	NATURE DES BLESSURES	PREMIERS SYMPTOMES DURÉE D'INCUBATION
43	A... (Joanny), caporal, 157e inf.	Blessé le 21 décembre 19 5. Injection de sérum, le 24 décembre, 3 jours après la blessure. 2e injection le 1er janvier 1916.	Plaie, par éclat de grenade, de la jambe droite avec phlegmon diffus du mollet.	3 janvier 1916. 13 jours après la blessure.
44	B... (Jules), caporal, 330e inf.	Blessé le 27 février 1916. A reçu deux injections de sérum le jour même de la blessure.	Plaie, par éclat d'obus, des parties molles du bras droit, avec perte de substance importante, très infectée. Suture secondaire, le 7 mars.	11 mars. 13 jours après la blessure et 4 jours après l'intervention.
45	B... (Albert).	Blessé le 7 mars 1916. Injection de sérum, le jour de la blessure	Blessure pénétrante du coude gauche, par éclat d'obus, arthrite suppurée du coude. Œdème considérable. Résection atypique et drainage le 14 mars.	15 mars 1916. 8 jours après la blessure.
46	O... (Aimé), 141e inf.	Blessé le 12 mars 1916. Injection de sérum, le jour même de la blessure.	Plaie, par éclat d'obus, de la région dorsale. Eclat coincé entre les apophyses épineuses des 5e et 6e dorsales. Extraction de l'éclat, le 19.	26 mars 1916. 13 jours après la blessure et 7 jours après l'intervention.
47	R... (Jean), 2e génie.	Blessé le 14 mars 1916. Injection de sérum, immédiatement après la blessure.	Plaie, par éclat d'obus, à un seul orifice de la région malléolaire externe pied gauche. Arthrite suppurée ti io-tarsienne.astragalectomie le 17 mars.	31 mars 1916. 17 jours après la bles-ure et 14 jours après l'intervention.
48	D... (Étienne), 47e inf.	Blessé le 15 mai 1916. Injection de sérum immédiate.	Plaies multiples, par éclats d'obus, du genou droit, ayant nécessité une résect. (cuisse dr., drain.); (cuisse g., extr. d'un éclat et sut.); jambe gauche, frac. du péroné); vertex, pl. tr. infectées.	23 mai. 8 jours après la blessure.

SYMPTOMES TÉTANIQUES	TRAITEMENT — ÉVOLUTION	OBSERVATIONS
Trismus, spasmes de la jambe droite, se généralisant, opisthotonos, sueurs, hyperthermie.	Amputation de la cuisse, le 6 janvier. Injections de persulfate qui font cesser les crises. Contractures permanentes généralisées. Meurt le 20 janv. 1917 en 17 j.	Profondément infecté. Injection de sérum unique, tardive.
Trismus, exagération des réflexes, sueurs profuses, hyperthermie.	Débridement de la plaie. Pansement au chlorure de chaux. Injections de sérum répétées. Guérison, fin avril, en 45 jours.	Tétanos postopératoire.
Trismus, exagération des réflexes, contractures paroxystiques douloureuses du membre blessé tendant à se généraliser. Sueurs profuses, hyperthermie.	Injections répétées de sérum et de persulfate. Les crises douloureuses cessent, mais la température s'élève rapidement et les contractures permanentes s'étendent. Mort, par asphyxie, le 20 mars. Evolution, en 5 jours.	
Trismus, exagération des réflexes, trépidation épileptoïde, crises spasmodiques généralisées, subintrantes, douloureuses, dysphagie, cris. Etat rapidement asphyxique.	Même traitement. Evolution fatale en 5 jours. Meurt sans crises, le 1er avril, en deux jours.	Tétanos postopératoire.
Trismus, contracture permanente des mucles abdominaux et des membres inférieurs, crampes douloureuses, hyperthermie.	Même traitement. Les crises disparaissent mais les contractures permanentes se généralisent. Meurt, par asphyxie, le 11 avril, en 2 jours.	Tétanos postopératoire.
Trismus, raideur de la nuque, rictus sardonique, dysphagie, contracture permanente des muscles du membre inférieur gauche. Teint plombé, hyperthermie.	Pansement au chlorure de chaux. Injections répétées de sérum. Aggravation rapide, agitation. Meurt, le 28 mai, en 5 jours.	Suture précoce d'une plaie infectée, après extraction du projectile, dans une ambulance du front.

NUMÉROS des observations	NOMS	DATES DES BLESSURES et des INJECTIONS DE SÉRUM	NATURE DES BLESSURES	PREMIERS SYMPTOMES D'INCUBATION
49	R... Léopold, 3e génie.	Blessé le 18 mai 1916. Injection de sérum, le 19.	Plaie, par éclat d'obus, du cou-de-pied gauche, fracture du tibia, ouverture de l'articulation tibio-tarsienne. Astragalectomie le 23 mai.	29 mai. 11 jours après la blessure et 6 jours après l'intervention.
50	B... (Eugène), 2e zouaves.	Blessé le 13 juin 1916. Injection de sérum, le même jour.	Petite plaie, par éclat d'obus, de la région cervicale. Eclat non extrait. Cicatrisée fin juin.	17 juillet. 18 jours après la blessure.
51	D... (Auguste), 294e inf.	Blessé le 22 mai 1916. Injection de sérum, le 24 mai.	Eclats d'obus multiples des deux jambes, fissure du tibia gauche. Arthrite suppurée tibio tarsienne. Astragalectomie, le 27 juin.	6 juillet 1916. 45 jours après la blessure et 9 jours après l'intervention.
52	M... (Jean), 4e colonial, (Maroc).	Blessé le 11 juin 1916. Injection de sérum, le même jour.	Plaie, en séton, de l'avant-bras droit, par éclat d'obus. Fracture du radius, drainage, appareil plâtré. Ablation du plâtre, le 15 juillet.	23 juillet 1916. 43 jours après la blessure et 8 jours après l'ablation du plâtre.
53	B... (Ab del-Kader), 2e tirailleurs algériens.	Blessé le 28 septembre 1915. Injection de sérum, le même jour.	Fracture de la cuisse droite, par éclat d'obus, non consolidée, le 22 janvier 1916. Suture osseuse, pratiquée à cette date.	28 janvier 1916. 92 jours après la blessure et 6 jours après l'intervention.
54	C... (Jean-Marie), 252e inf.	Blessé le 11 juillet 1916. 1re injection immédiate. 2e injection, 2 jours après.	Large abrasion de la région sacro-iliaque, lésion de la table externe du sacrum, par éclat d'obus.	26 juillet. 16 jours après la blessure.

PREMIERS SYMPTOMES	TRAITEMENT ÉVOLUTION	OBSERVATIONS
Trismus, raideur de la nuque, dysphagie, crises d'étouffement, spasmes fréquents, cris, pansements douloureux.	Plaie extrêmement fétide. Traitée par le chlorure de chaux. Sérum, persulfate. Evolution foudroyante, en 24 heures. Mort, le 30 mai.	Tétanos postopératoire.
Trismus, raideur de la nuque, dysphagie, exagération du réflexe rotulien, sueurs profuses, pas de fièvre.	Injections de sérum répétées. Contractures permanentes progressives. Amélioration du 14 au 17 juillet, puis rechute, opisthotonos permanent sans crises, hyperthermie, évolution fatale mais lente, en 27 jours. Meurt, le 21 juillet.	Malgré la cicatrisation, il est probable que la toxine a continué à être sécretée autour du projectile non extrait.
Trismus, raideur de la nuque, dysphagie et exagération des réflexes, hyperthermie.	Plaie extrêmement infectée et fétide. Traité par le chlorure de chaux. Sérum à doses répétées. Amélioration rapide. Guérison.	Tétanos postopératoire.
Trismus, raideur de la nuque, rire sardonique, rachialgie, exagération des réflexes, clonus de la rotule, contractures permanentes des muscles de l'avant-bras, du bras et de l'abdomen, spasmes douloureux, sueurs.	Injections de persulfate et de sérum répétées. Les crises cessent. Amélioration rapide. Guérison.	
Trismus, raideur de la nuque, quelques spasmes, sueurs profuses, exagération des réflexes.	Même traitement. Aggravation extrêmement rapide, sans crises. Evolution fatale en 48 heures. Mort le 30 janvier 1916.	Tétanos postopératoire.
Trismus, raideur de la nuque, spasmes douloureux des membres inférieurs, opisthotonos, sueurs profuses, exagération des réflexes.	Injections de persulfate et de sérum. Disparition des crises, mais évolution fatale, en 4 jours. Mort, le 30 juillet.	

La discussion de ces 54 cas de tétanos post-sériques va nous permettre d'étudier les limites de temps dans lesquelles l'injection de sérum antitétanique peut préserver de l'infection et de formuler quelques nouvelles considérations relatives à la symptomatologie, l'évolution, le pronostic et le traitement du tétanos post-sérique.

1° Limites de temps et de doses dans lesquelles l'injection de sérum antitétanique peut préserver de l'infection.

Au début de la guerre, alors que les blessés n'étaient pas encore soumis systématiquement aux injections de sérum antitétanique aussitôt après leur blessure, le nombre des cas de tétanos était fort important. Dans les hôpitaux de l'arrière, à l'Hôtel-Dieu de Lyon, par exemple, qui a reçu plusieurs milliers de blessés pendant les premiers mois de la campagne, on comptait de 0,75 à 1 p. 100 de tétaniques, la maladie affectant des formes particulièrement sévères.

Quelques mois plus tard, lorsque les blessés ont reçu régulièrement les injections préventives, les cas d'infection par le bacille de Nicolaïer sont devenus beaucoup plus rares en même temps que leur gravité diminuait dans une large mesure.

Cependant l'immunité conférée par les injections de sérum n'est pas absolue, ainsi que l'ont constaté déjà bien des auteurs. Nos observations de tétanos post-sériques confirment ce fait une fois de plus.

Il nous a semblé que la sérothérapie antitétanique pouvait se trouver en défaut pour deux raisons principales :

A. — Lorsque la quantité de toxine sécrétée au sein des plaies est considérable et hors de proportion avec la dose de sérum injectée : c'est ce qui semble avoir lieu dans le *tétanos post-sérique précoce* ;

B. — Lorsque l'immunité conférée par l'injection préventive est partiellement ou totalement épuisée au moment où se font, au niveau de blessures plus ou moins anciennes, cicatrisées ou non, des ensemencements tétaniques à la suite d'une intervention chirurgicale ou d'un traumatisme qui libèrent des spores enfermées dans des corps étrangers enkystés : ce sont *les tétanos post-sériques tardifs*, de beaucoup les plus fréquents.

A. — Tétanos post-sériques précoces.

Cette forme est relativement rare, nous l'avons rencontrée 12 fois seulement sur 88 cas de tétanos; les sujets qui en ont été atteints avaient reçu l'injection préventive réglementaire et avaient été blessés de 6 à 13 jours avant l'éclosion des premiers symptômes tétaniques. Ces cas sont les suivants :

OBSERVATIONS	INCUBATION		
3. P... (Lazare).	10 jours.	Tétanos sans trismus.	Mort en 2 jours.
4. L... (Paul).	7 —	— —	Guéri.
11. L... (Ernest).	7 —	— —	Guéri.
15. R... (Albert).	8 —	— —	Mort en 19 jours.
16. B... (Marius).	8 —	Trismus atténué.	Mort acc. anesthésique
17. A... (Pierre).	11 —	— —	Guéri.
23. N... (Jules).	13 —	Tétanos avec trismus.	Mort en 2 jours.
32. A... (François).	6 —	— —	Mort en 2 jours.
35. C... (Benoit).	8 —	— —	Guéri.
43. A... (Joanny).	13 —	— —	Mort en 17 jours.
45. B... (Albert).	8 —	— —	Mort.
49. D... (Etienne).	8 —	— —	Mort en 5 jours.

La plupart de ces échecs peuvent vraisemblablement être attribués à une disproportion entre la dose de sérum injectée et la quantité de toxine surabondamment élaborée au niveau des plaies.

Quelques auteurs rapportent aussi dans des cas de ce genre l'inefficacité de l'antitoxine à l'imprégnation massive des nerfs lorsqu'ils sont en contact direct avec les foyers purulents tétanifères ou dans leur voisinage immédiat; mais l'examen des lésions dans les 12 observations qui précèdent, semble indiquer qu'il faut incriminer surtout l'insuffisance des doses de sérum injectées par rapport aux quantités de toxines à neutraliser.

Voici d'ailleurs la description des blessures pour les cas qui nous occupent :

Obs. **3.** — P... (Lazare). Plaie par éclat d'obus de la cuisse droite avec fracture du fémur, très infectée.

Obs. **4.** — L... (Paul). 1° Plaie par éclat d'obus de la jambe gauche; 2° Blessures multiples par balle et par éclats d'obus de la jambe gauche. Pas de débridement, pas d'extraction de projectile, aucune intervention primitive. Plaies très infectées.

Obs. **11.** — L... (Ernest). 1° Quatre plaies par éclats d'obus à un seul orifice siégeant au bras droit face postérieure; les deux plaies supérieures sont les plus importantes, elles sont situées sur le bord postérieur du deltoïde; elles renferment des projectiles et des débris de vêtement qui ne sont enlevés que trois jours après les blessurs; 2° Plaie en séton du thorax n'intéressant que les parties molles, trajet suivant le grand pectoral droit. Drainage; 3° Plaie pénétrante du genou droit par éclat d'obus, épanchement intra-articulaire. Le projectile, situé en arrière de l'aileron de la rotule, est extrait cinq jours après la blessure; 4° Tatouage du membre inférieur gauche par une multitude de petits corps étrangers.

Au moment de l'éclosion des premiers symptômes, 7 jours après la blessure, on constate une contracture locale de la jambe et de la cuisse gauches. En examinant les petites plaies multiples de ce membre, on trouve sur la face antérieure de la cuisse un petit éclat d'obus microscopique, recouvert d'une croûtelle sous laquelle on fait sourdre une gouttelette de pus. La culture de ce pus a montré qu'il renfermait du bacille de Nicolaïer. Les débridements et l'extraction des projectiles ont donc été tardifs et la petite plaie suspecte de la cuisse gauche n'a été nettoyée qu'après l'éclosion des premiers symtômes de tétanos.

Obs. **15.** — R... (Albert). Plaies multiples par éclat d'obus. 1° Éclatement du globe oculaire droit; 2° Gros éclat de la région lombaires logé dans les masses musculaires lombaires gauches après avoir traversé la ligne médiane et fracturé les apophyses épineuses; 3° Plaie de la face externe de la cuisse droite, projectile superficiel; 4° Plaie pénétrante de la fesse droite. Le lendemain de la blessure, après deux injections de sérum antitétanique, on débride les plaies; extraction des projectiles et ablation des esquilles vertébrales. Plaies très infectées, atones, fétides, pus très abondant.

Obs. **16.** — B... (Marius). Plaies pénétrantes anfractueuses du tiers supérieur de la jambe gauche, l'un sur la face externe et l'autre sur la face interne; ces plaies ne paraissent pas communiquer. Arrivé à l'Hôtel-Dieu avec des fragments de drains borgnes obturant les plaies; l'ablation de ces drains donne issue à 200 cent. cubes de pus fétide. Œdème de la jambe. Débridement insuffisant, drainage illusoire, rétention purulente. L'injection de sérum n'a eu lieu que trois jours après la blessure.

Obs. **17.** — A... (Pierre). 1° Plaie de la région dorso-lombaire par éclat d'obus, superficielle; 2° Plaie profonde anfractueuse avec suppuration persistante de la région temporale droite.

Obs. **23.** — N... (Jules). Plaie pénétrante de l'épaule gauche par éclat d'obus avec arthrite suppurée, projectile non extrait, non débridé.

Obs. **32.** — A... (François). Plaie pénétrante par éclat d'obus, seul orifice situé dans la égion tibiale supérieure. Gonflement articulaire, trajet très

infecté. Pas de débridement, pas de drainage Injection de sérum trois jours après la blessure.

Obs. 35. — C... (Benoit). Plaie par éclat d'obus à un seul orifice de la jambe droite avec fracture des deux os. Éclat non extrait, pas de débridement. pas de drainage.

Obs. 43. — A... (Joanny). Plaie par éclat de grenade de la jambe droite avec phlegmon gazeux diffus du mollet droit. Sphacèle considérable des tissus ayant nécessité une amputation au cours de l'évolution du tétanos.

Obs. 45. — B... (Albert). Blessure pénétrante du coude gauche par éclat d'obus. Arthrite suppurée du coude. Œdème de tout le membre. Petit drainage insuffisant. Résection tardive la veille de l'éclosion des symptômes tétaniques.

Obs. 49. — D... (Étienne). Plaies par éclats d'obus. 1° Genou droit, ayant nécessité la résection pratiquée dans une ambulance de l'avant, 2° Face interne de la cuisse gauche au quart inférieur avec large abrasion des parties molles qui avaient été suturées à la même ambulance après extraction d'un éclat; 3° Jambe gauche avec un seul orifice externe, incision face postéro-interne pour l'extraction du projectile, drainage, pas de lésion osseuse, impotence de l'articulation tibio-tarsienne par suite de lésion du sciatique poplité externe; 4° Vertex, incision exploratrice, pas de trépanation, suture.

L'abrasion des parties molles de la cuisse suturée trop précocement a immédiatement été le siège d'une réaction inflammatoire intense qui a obligé à faire sauter les points de suture au bout de 48 heures.

À l'arrivée à l'Hôtel-Dieu, on se trouve en présence de plaies extrêmement fétides et suppurées, on s'empresse d'enlever les derniers points de suture au niveau de la plaie du cuir chevelu.

Dans les observations XVI et XXXII, l'injection de sérum a été faite trop tard (3 jours après la blessure), mais nous pouvons remarquer que ces cas de tétanos post-sériques se rapportent à des blessés chez lesquels on n'a pas pris la précaution d'effectuer de larges débridements, des drainages suffisants, des nettoyages convenables ou dans les plaies desquelles on a laissé quelquefois des corps étrangers et des projectiles non extraits. Tous ces malades, profondément infectés, étaient porteurs de foyers purulents dans lesquels la toxine tétanique s'est élaborée en quantité telle, que la protection sérique s'est trouvée en défaut.

Le tétanos post-sérique précoce paraît n'être que la conséquence de cette surproduction de toxine.

Cette hypothèse est d'autant plus vraisemblable qu'il est toujours possible d'annuler chez les animaux l'effet des injections préventives, en leur administrant des doses suffisamment importantes de toxine.

B. — Tétanos post-sériques tardifs.

Bien plus nombreuses sont les formes dans lesquelles les accidents tétaniques apparaissent longtemps après la blessure. L'infection n'est plus alors contemporaine de cette blessure. Comme nous l'avons antérieurement démontré (1), les spores de bacille de Nicolaïer peuvent être fixées à la surface des projectiles, inclus dans des corps étrangers divers, enkystés dans des bourgeons charnus, et demeurer ainsi pendant des semaines et des mois, à l'état de vie latente.

Qu'une intervention chirurgicale ou un traumatisme viennent les libérer et fournir les éléments indispensables à leur développement, ces spores cultivent, sécrétant leur redoutable toxine. Il n'est pas toujours possible de déterminer l'action traumatique qui a provoqué la libération des micro-organismes.

Sur nos 42 observations de tétanos post-sériques tardifs, nous la retrouvons d'une façon nette et précise pour plus de la moitié des cas (25 fois). Quel a été le mécanisme en cause dans nos autres observations chez des sujets qui n'ont eu à subir aucune intervention chirurgicale secondaire?

La marche, le jeu des muscles, les traumatismes même légers résultant d'un pansement, d'un massage, ne peuvent-ils suffire à déclencher l'infection tardive? Autant de questions auxquelles il nous paraît difficile de répondre en l'état actuel de nos constatations.

Nous ne nous croyons pas autorisés cependant à admettre l'hypothèse de cette unique pathogénie.

L'état de vie latente des spores de tétanos pourrait encore s'expliquer, semble-t-il, par le fait que ces spores sont temporairement imprégnées par des liquides de l'organisme renfermant l'antitoxine injectée et qui s'opposent à leur développement. La végétation microbienne ne commencerait à s'effectuer qu'une fois l'antitoxine usée par le temps. Mais cette hypothèse perd toute sa valeur dans les cinq cas de tétanos tardif que nous avons observés chez des sujets n'ayant reçu aucune injection préventive.

(1) Bérard et Lumière, Sur le tétanos tardif. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 21 février 1916.

L'un de ces malades notamment a conservé à l'état latent, dans un foyer de fracture fermée avec pseudarthrose, des bacilles pathogènes, qu'une amputation pratiquée 7 mois après la blessure a libérés en donnant, 212 jours après la lésion primitive qui avait apporté les germes, un tétanos aigu ayant emporté le blessé en 4 jours.

Enfin, on peut encore supposer l'existence d'une sécrétion extrêmement minime et lente de la toxine au sein des tissus : tant que le poison peut être neutralisé par l'antitoxine, tant que l'immunité ne s'est pas épuisée, aucun symptôme ne surgit, mais à un moment donné l'excrétion microbienne peut déborder l'action préservatrice de l'antitoxine.

Nous ne possédons pas pour l'instant, nous le répétons, des données suffisantes pour trancher d'une façon définitive cette question.

Ce que nous pouvons cependant constater, c'est que, dans la majorité des cas, on retrouve, à l'origine de l'infection tardive, un traumatisme qui paraît avoir été la cause déterminante.

Nous rappelons dans le tableau suivant 25 observations dans lesquelles on a pu préciser le moment où la libération microbienne a été effectuée.

OBSERVATIONS	INCUBATION apparente	INCUBATION vraie		
5. V... (Marius).	12 jours.	8 jours.	Pas de trismus.	Mort.
8. M... (Cyprien).	27 —	5 —	*Id.*	Mort de septicopyohémie.
9. D... (Alfred).	16 —	12 —	*Id.*	Guéri.
13. D... (Claude).	18 —	11 —	*Id.*	Guéri.
18. G... (Louis).	18 —	6 —	Trismus atténué.	Guéri.
20. C... (Pierre).	56 —	26 —	*Id.*	Mort.
21 C... (Jules).	33 —	21 et 3	*Id.*	Guéri.
22 B... (Jules).	62 —	20 —	*Id.*	Guéri.
24. B... (Emile).	60 —	8 —	*Id.*	Guéri.
25 P... (Henri).	84 —	7 —	*Id.*	Guéri.
28. V... (Pierre).	41 —	8 —	*Id.*	

OBSERVATIONS	INCUBATION apparente	INCUBATION vraie		
29 T... (Célestin).	13 —	8 —	Trismus.	Guéri.
33. M... (Lucien).	16 —	12 —	*Id.*	Guéri.
34. D... (Arthur).	51 —	8 —	*Id.*	Mort.
36. L... (Marcel).	25 —	14 —	*Id.*	Mort de septicopyohémie.
37. V... (Joseph).	68 —	10 —	*Id.*	Guéri.
38. C... (Félix).	86 —	14 —	*Id.*	Mort.
39. S... (Anatole).	16 —	11 —	*Id.*	Mort.
40. E... (Lucien).	38 —	6 —	*Id.*	Mort.
44. B... (Abd-el-Kader).	12 —	6 —	*Id.*	Mort.
45. B... (Jules).	93 —	4 —	*Id.*	Guéri.
47. O... (Aimé).	13 —	7 —	*Id.*	Mort.
50. R... (Léopold)	14 —	6 —	*Id.*	Mort.
52. D... (Auguste).	45 —	9 —	*Id.*	Guéri.
53 M... (Jean).	43 —	8 —	*Id.*	Guéri.

Manifestement, chez ce groupe de malades, le tétanos n'est survenu qu'après usure de l'action antitoxique, et *dans ces 25 cas l'infection tardive aurait pu être évitée si on avait pris la précaution de pratiquer une nouvelle injection de sérum, au moment de l'intervention chirurgicale complémentaire, qui a libéré les germes infectants* (1).

L'épuisement de l'antitoxine est un fait d'expérience et de clinique connu. On a admis, qu'en général, l'immunité conférée par la sérothérapie antitétanique ne persistait guère au delà d'une quinzaine de jours. On sait aussi que, dans certains cas, ces délais de protection peuvent être encore réduits, en raison d'une sécrétion microbienne plus active. Mais quel est le temps pendant lequel l'injection de sérum donne à l'organisme la résistance partielle qui conduit aux formes postsériques atténuées ?

(1) L. Bérard et A. Lumière, Sur le tétanos tardif. *Lyon chirurgical*, octobre 1915.

En classant nos observations d'après le temps qui s'est écoulé entre la date de l'injection de sérum et l'apparition des signes tétaniques, nous établissons le tableau suivant :

OBSERVATIONS	INCUBATION apparente	INCUBATION vraie		
43. B...	92 jours.	6	Mort en 82 jours.	Trismus.
37. C...	86 —	14	Mort en 31 jours.	*d.*
25. P...	84 —	7	Guéri en 60 jours.	Trismus atténué.
14. E ..	80 —	(?)	Guéri.	Pas de trismus.
27. B...	80 —	(?)	Guéri.	Trismus atténué.
36. V...	68 —	10	Guéri en 30 jours.	Trismus.
24. B...	68 —	8	Guéri en 90 jours.	Trismus atténué.
22. B...	62 —	10	Guéri.	*Id.*
20. C...	56 —	26 (?)	Mort en 8 jours.	*Id.*
19. C...	47 —	(?)	Mort en 12 jours.	*Id.*
41. D...	45 —	9	Guéri.	Trismus.
42 M...	43 —	8	Guéri.	*Id.*

Nous constatons dans quelques-unes de ces formes très tardives, dans l'observation XIV par exemple, l'absence de trismus qui paraît être un indice de la persistance d'un résidu d'immunisation. Chez la plupart des autres, le trismus est atténué, ce qu'on ne rencontre que très exceptionnellement dans les cas de tétanos précoce en l'absence d'injection préventive.

De plus, nous observons une proportion de guérison (8 sur 12). qui n'est guère compatible avec la disparition de toute trace d'immunisation.

L'effet du sérum semble donc se poursuivre pendant plusieurs mois et conférer à l'organisme une immunité relative. Cette immunité relative persistante n'est apparente que si la production de toxine est très limitée et très minime ; les tétanos post-sériques précoces démontrent l'insuffisance de l'immunisation lorsque cette toxine est abondamment élaborée et répandue dans l'organisme.

2° Quelques considérations sur la symptomatologie, l'évolution, le pronostic et le traitement du tétanos post-sérique.

Avec la sérothérapie antitétanique, nous avons vu apparaître les formes particulières de tétanos avec contractures stricte-

ment localisées au membre blessé et sans aucune trace de trismus ; elles sont relativement peu fréquentes (15 cas sur 54), soit 28 p. 100.

Comme l'a fait remarquer M. Montais, ces formes se manifestent généralement au cours du premier mois qui suit la blessure. Nous rappelons que nous avons cependant constaté, dans l'observation XIV, l'absence de trismus dans un tétanos ayant débuté 80 jours après la blessure.

La durée d'incubation apparente moyenne pour nos 15 cas de tétanos localisés sans trismus est de 23 jours ; la plus courte est de 7 jours.

A côté de cette forme sans trismus qui constitue une nouveauté pathologique, nous avons enregistré 13 cas de tétanos avec trismus retardé ou atténué, qui représentent 24 p. 100 de l ensemble de nos tétanos post-sériques.

La durée d'incubation apparente moyenne pour cette classe a été de 48 jours, la plus longue de 84 jours et la plus courte de 8 jours.

Enfin, les tétanos post-sériques avec trismus évoluent sensiblement comme le tétanos précoce.

Pour cette catégorie, la durée d'incubation apparente moyenne est de 29 jours, la plus longue a été de 92 jours, et la plus courte de 6 jours.

Cette classification, établie pour fixer les idées, n'est pas absolue, car il est souvent fort difficile de déterminer le groupe dans lequel on classera certaines formes. Chacun des symptômes peut, en effet, s'observer à tous les degrés et nous n'avons pas vu deux cas qui puissent être considérés comme identiques, ni même très voisins.

Cette variabilité des symptômes est liée aux multiples éléments qui les engendrent : la virulence du bacille, les associations microbiennes, l'intensité de la production de la toxine, l'apport leucocytaire pour la phagocytose, le siège des plaies, la puissance antitoxique du sérum, la dose et la date de l'injection, le traitement appliqué, etc... En sorte, qu'appliquant ici une fois de plus le vieil adage, nous pouvons conclure sur ce point en déclarant : *il n'y a pas de tétanos, mais des tétaniques.*

Un fait reste toutefois acquis : l'évolution de l'intoxication

tétanique semble retardée par la sérothérapie préventive, et nous trouvons la confirmation de cette remarque dans la durée comparative de la maladie chez les blessés qu'il nous a été donné d'observer, selon qu'ils avaient été traités ou non par le sérum.

Des premiers symptômes à la mort, nous avons vu, en effet, l'évolution fatale moyenne se produire en 5 jours pour 19 cas de tétanos sans injections antitétaniques, tandis que, dans les 21 cas de décès post-sériques que nous avons enregistrés, la durée moyenne de la maladie a été de 10 jours environ.

L'influence du sérum préventif sur l'évolution du tétanos mortel semble d'ailleurs d'autant plus évidente, qu'il s'agit de blessés placés dans les mêmes conditions et soumis aux mêmes méthodes de traitement.

Au point de vue du pronostic, l'action de la sérothérapie immunisante n'est pas davantage contestable, ainsi que le démontre le tableau ci-dessous :

	NOMBRE de CAS	GUÉRI	MORT de TÉTANOS	MORT d'affections INTERCURRENTES
Tétanos post-sériques sans trismus.	15	11	1	3
Tétanos post-sériques avec trismus retardé ou atténué.	13	8	3	2
Tétanos post-sériques avec trismus.	26	8	17	1
Tétanos sans injection préventive	27	7	19	1
	91	34	40	7
		81		

Lorsque la prédominance de l'antitoxine sur le poison microbien est suffisante pour masquer le symptôme capital du tétanos, le trismus, en empêchant l'envahissement des centres bulbo-médullaires, la maladie est bénigne et le pronostic favorable. Quand la propagation de la toxine s'étend et se manifeste par un trismus retardé ou atténué, les chances de guérison

sont diminuées, mais cependant encore importantes, presque les deux tiers des malades de cette catégorie ont survécu à leur intoxication.

Lorsque le trismus apparaît d'emblée, indiquant l'épuisement de l'effet préservatif du sérum ou son débordement par l'abondance de la sécrétion toxique, la proportion est renversée et les décès dépassent les survies.

Enfin, en l'absence d'injection préventive, le pronostic est plus sombre encore.

Au point de vue du traitement, le tétanos post-sérique comporte les mêmes difficultés que le tétanos précoce commun, dans l'ignorance où nous sommes d'un agent spécifique convenable.

La médication symptomatique semble constituer l'élément principal du traitement.

Cependant, comme l'évolution des tétanos post-sériques est en général lente et retardée, les injections de sérum antitétanique à haute dose semblent exercer une influence heureuse sur cette évolution.

Dès l'apparition des premiers symptômes de tétanos, on devra donc injecter, en 2 ou 3 jours, 100, 200 cent. cubes de sérum ou même plus.

Lorsque cette mesure n'a pu être appliquée par suite de l'évacuation tardive des malades sur l'Hôtel-Dieu, ou pour toute autre cause, nous avons vu, à plusieurs reprises, du tétanos d'apparence bénigne avec trismus atténué évoluer fatalement

En dehors de l'action du sérum à haute dose dans les cas particuliers d'évolution lente, nous avons été réduits à recourir à la médication symptomatique.

Contre les crises spasmodiques, les injections intraveineuses d'une solution de persulfate de soude pur à 5 p. 100 (1) nous ont donné des résultats supérieurs à tout autre traitement.

L'efficacité de ce produit se manifeste aussitôt après son administration, et n'a d'autre inconvénient que de provoquer parfois un vomissement quelques minutes après l'injection. La solution de persulfate à la dose de 20 cent. cubes est dépourvue

(1) A. Lumière, *Lyon chirurgical*, octobre 1915.

de toxicité. Répétée une ou deux fois par jour, suivant l'intensité des crises, elle exerce sur le spasme paroxystique une influence constante qui n'a pas les inconvénients du chloral ou du sulfate de magnésie. Les blessés réclament, en général, ces injections grâce auxquelles l'évolution de la maladie se déroule, le plus souvent, sans que l'on ait à assister à l'effroyable spectacle des convulsions tétaniques. Lorsque, dans quelques cas, leur suppression n'est pas absolue, elles sont tout au moins considérablement atténuées.

Malheureusement, nous nous trouvons désarmés en présence des contractures permanentes qui, dans les cas mortels, se généralisent et finissent par gagner les muscles de la respiration et faire succomber le malade à l'asphyxie.

Conclusions.

1° Les injections préventives de sérum antitétanique ne possèdent pas une action prophylactique absolue et illimitée.

2° La durée de l'immunité absolue conférée par le sérum ne peut être précisée; elle dépend des proportions relatives de toxine et de sérum préventif en conflit dans l'organisme.

3° Les cas de tétanos post-sériques paraissent dus aux deux causes principales suivantes :

a) Sécrétion surabondante de toxine au niveau des plaies, hors de proportion avec la dose de sérum préventif injectée (tétanos post-sérique précoce) ;

b) Libération de spores de tétanos jusque-là à l'état de vie latente dans les tissus, par une intervention chirurgicale secondaire ou un traumatisme, alors que l'activité de l'antitoxine s'est épuisée (tétanos post-sérique tardif).

4° Le tétanos post-sérique précoce peut, dans la plupart des cas, être évité en débridant les plaies infectées, en les débarrassant soigneusement des corps étrangers qu'elles peuvent renfermer, en les drainant largement et en répétant une ou plusieurs fois l'injection de sérum.

5° Le tétanos post-sérique tardif est également évitable dans plus de la moitié des cas, en injectant aux blessés une nouvelle dose de sérum à l'occasion de toute intervention secondaire.

6° La sérothérapie préventive imprime parfois aux tétanos

post-sériques des caractères particuliers, en déformant plus ou moins la symptomatologie et l'allure clinique de la maladie.

7° Dans un certain nombre de cas de tétanos post-sériques (15 sur 54 pour nos observations personnelles), l'antitoxine injectée a évité la fixation du poison microbien sur le système nerveux central, limitant son action aux nerfs moteurs du membre blessé. Ces tétanos localisés sans trismus ont beaucoup moins de gravité que les autres formes.

8° Dans quelques autres cas (13 sur 54), les centres bulbo-médullaires ne sont que partiellement protégés; on constate alors l'apparition d'un trismus tardif ou incomplet accompagnant la contracture locale. Le pronostic est alors moins favorable.

9° Lorsque l'antitoxine n'a pas préservé le système nerveux central, on observe la forme post-sérique avec trismus d'emblée, la plus fréquente (26 cas sur 54), dans laquelle le pronostic est des plus sévères.

10° Le traitement du tétanos post-sérique paraît comporter l'administration aussi précoce que possible de hautes doses de sérum.

Il n'y a pas jusqu'ici de traitement curatif; il convient de combattre les manifestations symptomatiques.

On se trouve désarmé contre la contracture permanente, mais les spasmes paroxystiques peuvent être traités par des stupéfiants : chloral, morphine, par les injections de sulfate de magnésie ou de persulfate de soude, cette dernière substance paraissant être le médicament de choix, en raison de son efficacité et de sa faible toxicité.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXXI. — 1917. Février. — N° 2.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE M. PASTEUR

PAR

E. DUCLAUX



PARIS

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, Boulevard Saint-Germain (6e).

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : **18** francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : **20** francs.

our tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

SOMMAIRE DU N° 2

BULLETIN

DE LA

Société de Pathologie exotique

Siège de la Société : Institut Pasteur, Paris

Paraît 10 fois par an, 15 jours après chaque séance qui a lieu le 2e mercredi du mois, sauf en août et septembre.

Le volume de 1915, qui atteint 800 pages, avec figures dans le texte et planches hors texte, ne le cède en rien, malgré les circonstances, à ceux des années précédentes.

Prix de l'Abonnement :

France : 18 fr. — Union postale : 20 fr.

31e ANNÉE FÉVRIER 1917 N° 2

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

LA FERMENTATION LACTIQUE ET LES SELS DE THALLIUM

ÉTUDE SUR L'HÉRÉDITÉ

par CHARLES RICHET.

Il semble que, de toutes les études sur l'hérédité, la plus facile et la plus fructueuse soit la prolongée observation des fonctions d'un microbe. Or le ferment lactique se prête admirablement à cette analyse. L'intensité de sa fonction est en effet traduite exactement par l'acidité des liqueurs lactées dans lesquelles on l'a fait vivre.

En vingt-quatre heures, il s'est succédé déjà plusieurs centaines de générations, de sorte qu'on peut, au point de vue de l'hérédité, comparer la durée de vingt-quatre heures pour le ferment lactique, à celle de vingt-quatre siècles pour la race humaine.

Je peux prouver que ce ferment lactique s'habitue (par l'hérédité) aux poisons dans lesquels on le fait vivre.

J'ai choisi entre autres les sels de thallium (nitrate), d'abord parce que ce métal est rare, et que par conséquent le ferment ne peut y être déjà habitué; ensuite parce que les sels de thal-

lium, quoique assez toxiques, ne coagulent pas les matières protéiques.

Il fallait d'abord déterminer la dose toxique de ce sel pour le ferment lactique normal (1).

L'accoutumance se fait d'autant mieux que le ferment a été mis en cultures successives dans une solution plus concentrée. Mais, même à des doses faibles, l'accoutumance s'observe encore. Un ferment ayant poussé sur du lait avec 0 gr. 12 par litre est déjà très accoutumé. J'ai pu arriver à faire pousser le ferment dans des solutions à 2 gr. 20 par litre. A cette très forte dose il pousse encore assez bien; mais sa croissance est irrégulière.

Supposons que l'acidité du ferment cultivé sur une liqueur lactée non toxique soit égale à 100. Voici la moyenne de douze jours pour l'acidité des liqueurs toxiques (24 dosages : douze jours consécutifs) :

QUANTITÉ de NITRATE DE THALLIUM par litre.	ACIDITÉ
—	—
0 gr. 0	100
0 gr. 0001	102
0 gr. 001	99
0 gr. 0125	88
0 gr. 125	51
0 gr. 75	25
1 gr. 5	0

Ainsi des quantités de nitrate de thallium inférieures ou égales à 0 gr. 001 par litre n'exercent pas d'influence. Mais, à la dose de 0 gr. 0125, le ralentissement de la fermentation est notable, de 10 p. 100 : enfin, à 0 gr. 125, la fermentation a diminué de moitié (2).

Mais si l'on fait dans les mêmes conditions pousser du ferment habitué au thallium (à une solution de 0 gr. 75), on a de

(1) Le liquide de culture était du lait de vache, dilué de son volume d'eau. Chaque dosage représente deux chiffres, l'un après seize heures, l'autre après vingt-quatre heures de fermentation. La quantité de liquide fermentant était de 10 cent. cubes.

(2) Les chiffres sont cohérents. Soit la fermentation en lait normal égale à 100, la fermentation sur du lait contenant 0 gr. 1 par litre de nitrate de thallium, a été 66, 59, 35, 73, 77, 52, 29, 30, 56, 32, 49, 55.

tout autres chiffres. Soit 100 la quantité d'acide fournie par ce ferment, en lait normal, on a :

QUANTITÉ de NITRATE DE THALLIUM par litre.	ACIDITÉ	
	FERMENT HABITUÉ	FERMENT NORMAL
—	—	—
0 gr. 0	100	100
0 gr. 0001	92	102
0 gr. 001	102	99
0 gr. 01	102	88
0 gr. 125	112	51
0 gr. 75.	77	25
1 gr. 5	43	0

Ces chiffres sont extrêmement remarquables ; ils nous montrent ceci :

Avec 0 *gr.* 125 *de nitrate de thallium par litre, la fermentation lactique, pour le ferment normal, a diminué de moitié : pour le ferment habitué, elle est plus forte* (112 au lieu de 100).

Avec 1 gr. 5 le ferment habitué pousse assez bien, 43 p. 100 ; le ferment non habitué ne pousse pas du tout.

L'étude des chiffres successifs montre encore un phénomène intéressant, c'est que l'accoutumance ne s'établit pas tout de suite, et qu'il y a une période d'hésitation, pour ainsi dire, jusqu'au moment où le ferment se décide à l'accoutumance.

Voici dans cette série de douze jours la succession des acidités dans du lait contenant 1 gr. 5, et ensemencé avec un ferment progressivement habitué. (Le lait ensemencé avec le même ferment donne 100.) (Voir fig. 1) :

6 65 33 8 31 8 27 17

Pendant les huit premiers jours, encore que le ferment pousse un peu, il pousse mal. Soudain, au 9e jour, il se décide à s'accoutumer, et alors il donne successivement :

44 87 90 102

Ainsi, au 12e jour, on voit ce phénomène paradoxal, extraordinaire, que, dans une liqueur contenant 1 gr. 5 de nitrate de thallium, le ferment habitué pousse mieux que dans du lait normal. Remarquons que le ferment normal ne pousse pas du tout dans cette solution de thallium.

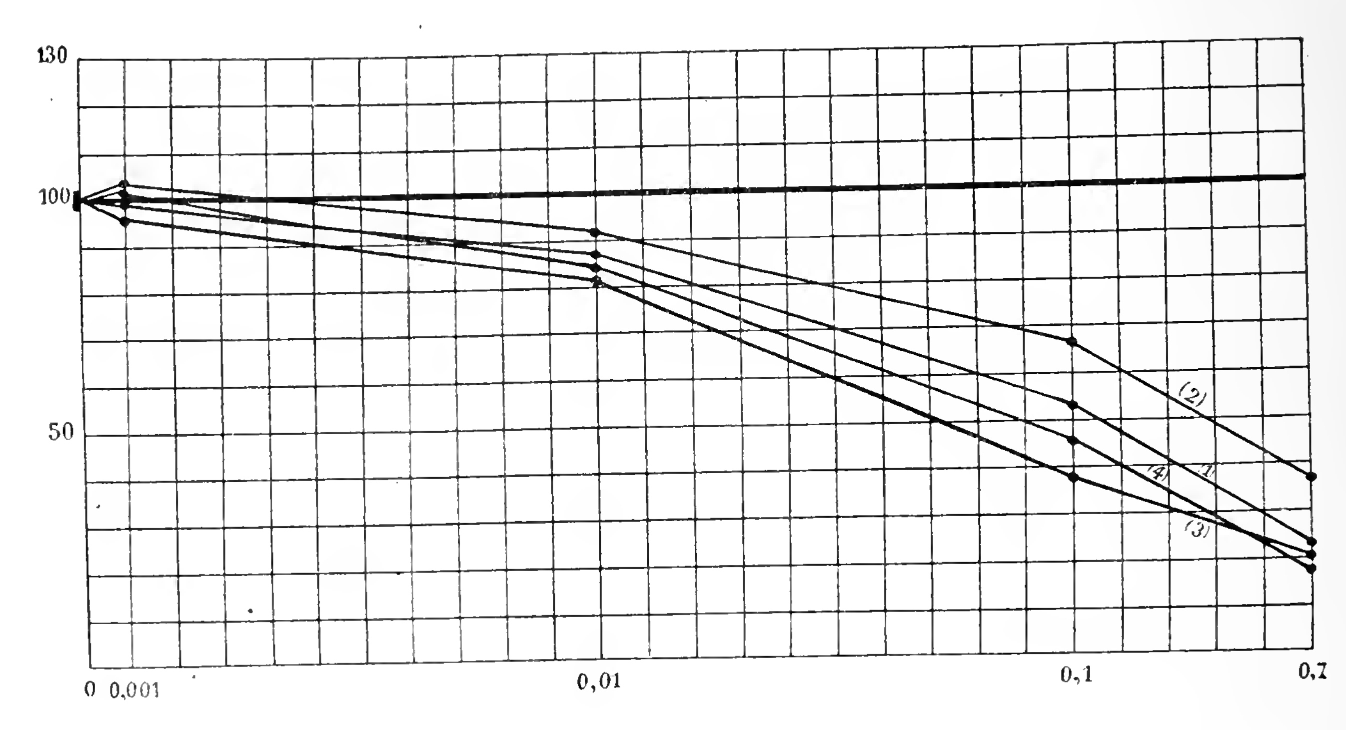


Fig. 1.

La ligne en trait gros indique la fermentation normale (ferment normal sur lait normal). En bas les doses de nitrate de thallium.

Les lignes en trait fin indiquent l'acidité du lait additionné de nitrate de thallium (aux doses qui sont marquées en bas) (**1**), pendant les trois premiers jours; (**2**), du 4e au 6e jour; (**3**), du 7e au 9e jour; (**4**), du 10e au 12e jour. Chaque jour est la moyenne de dix dosages. On voit qu'à très peu de chose près, pendant ces douze jours, le ferment normal a poussé de la même manière sur des laits additionnés de nitrate de thallium.

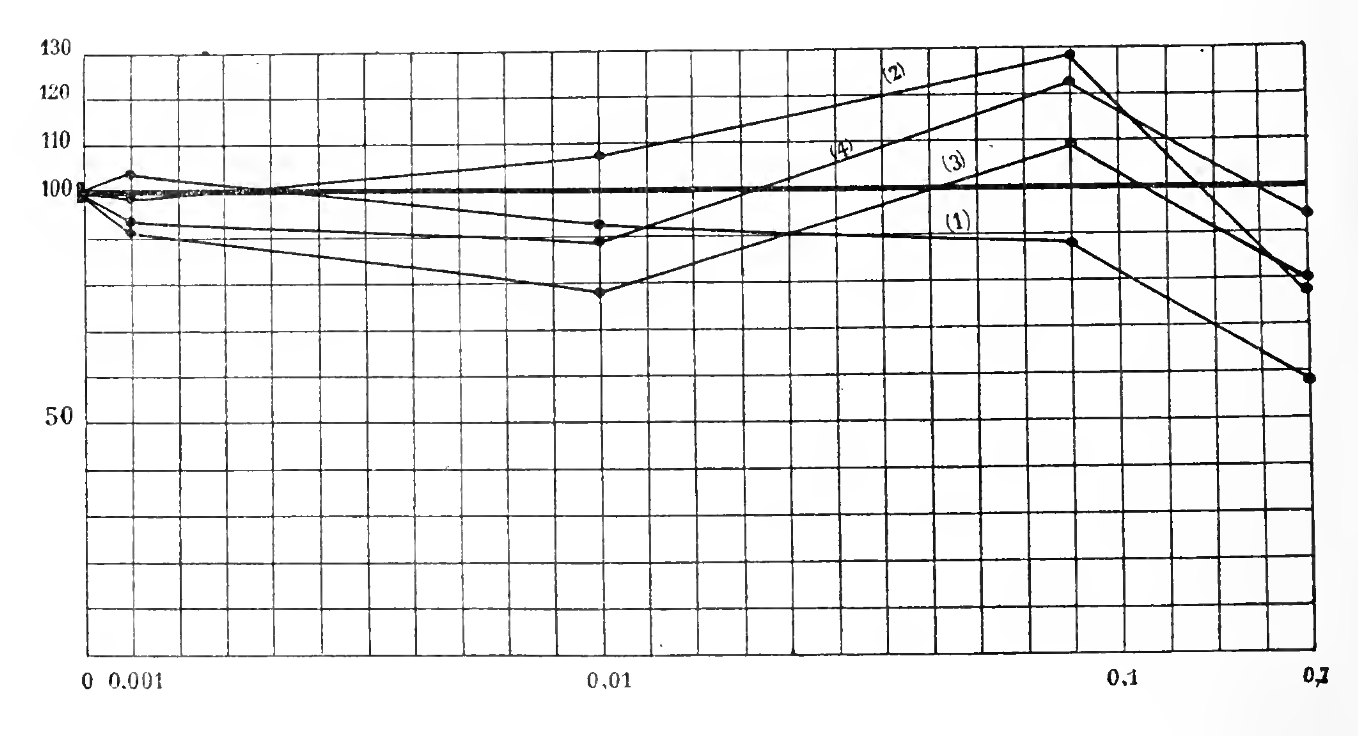


Fig. 2.

Mêmes indications que pour la figure 1, à laquelle il faut la comparer. Seulement, au lieu d'être du ferment normal, c'est du ferment habitué. Le trait gros indique la fermentation sur lait normal de ce ferment habitué = 100 Les lignes en trait fin indiquent sa fermentation sur des laits additionnés de nitrate de thallium. On voit que progressivement (**2**), (**3**) et (**4**) comparés à (**1**) le ferment s'est habitué en thallium, de sorte qu'il pousse de mieux en mieux sur du lait riche en thallium (0,1) que sur du lait normal.

Il y a une limite à l'accoutumance qu'il est impossible de dépasser. Je suis arrivé à faire vivre un ferment lactique dans des solutions contenant 2 gr. 75 de sel de thallium : mais alors sa vie est assez fragile.

Au contraire, il pousse bien, après ac-

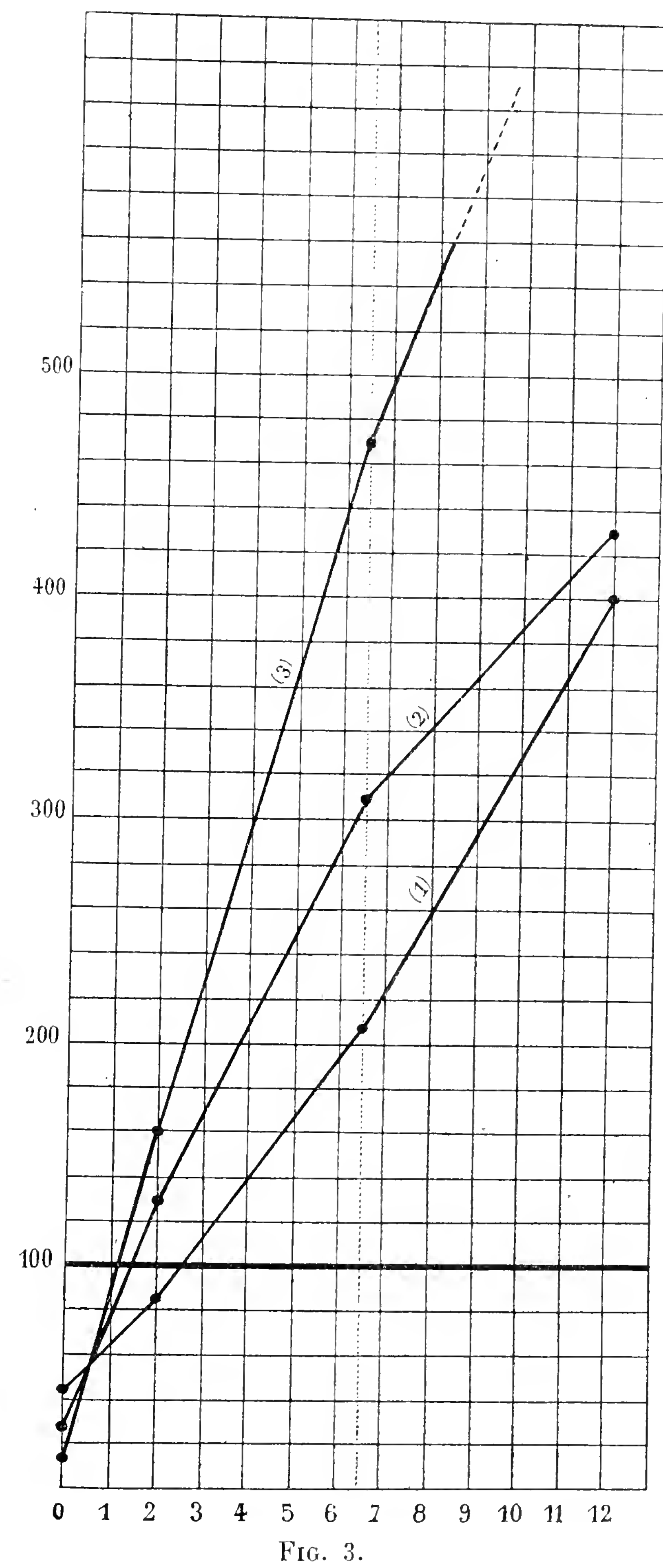


Fig. 3.

Légende de la figure 3.

Le trait gros indique le croît du ferment normal pris comme unité = 100 et on le compare avec le croît du ferment habitué. Bien entendu, il s'agit du croît du ferment normal sur des laits additionnés de nitrate de thallium, aux quantités marquées à la ligne inférieure en décigrammes par litre. Les traits fins indiquent le croît du ferment habitué à ces mêmes doses, par rapport au croît du ferment normal sur lait de même teneur en thallium.

On voit : 1° qu'à des doses faibles, le ferment habitué croît moins bien que le ferment normal; 2° qu'à des doses fortes le ferment habitué croît mieux que le ferment normal; 3° que pour les deux premiers jours (**1**), l'accoutumance est moindre que pour les trois jours suivants (**2**) et moindre encore que pour les 6ᵉ et 7ᵉ jours (**3**).

coutumance, dans du lait contenant 2 gr. 20. En onze jours il a donné 46 p. 100 de la fermentation sur lait normal (fig. 3).

L'accoutumance met longtemps à s'établir; elle procède presque toujours par le système des *mutations brusques*, ainsi que cela semble avoir été établi pour les végétaux supérieurs.

En voici un exemple très net, poursuivi pendant sept jours. Mais, pour le bien démontrer, nous prendrons une autre méthode de mensuration, c'est-à-dire que nous supposerons = 100 la fermentation du ferment normal que nous comparerons à celle du ferment habitué, dans le même milieu.

(Le ferment habitué était cultivé sur une solution à 1 gr. 24 de AzO^3Tl.)

Les quantités de nitrate de thallium étaient 0,00 (témoin); 0 gr. 24; 0 gr. 82; 1 gr. 24. C'est entre le quatrième et le cinquième jour que le ferment s'est décidé à l'accoutumance; le cinquième jour il donnait 23 — 250 — 440 — 800, et les sixième et septième jours les proportions sont restées les mêmes.

	0 gr. 0	0 gr. 24	0 gr. 82	1 gr. 24
Quatre premiers jours (moyenne) . . .	34	77	224	330
Trois jours suivants (moyenne)	18	192	460	1.000

Il est utile d'analyser ces chiffres : car ils vont nous montrer — outre cette mutation brusque au cinquième jour — que l'accoutumance a deux faces pour ainsi dire. Le ferment habitué au thallium pousse de mieux en mieux sur le thallium ; mais en même temps il pousse de moins en moins sur le lait normal, puisque, les 5e, 6e, 7e jour, il n'a donné que 18, alors que sur lait normal le ferment normal donnait 100. Ainsi, d'une part, il donne 1.000 sur lait chargé de thallium quand le ferment normal sur ce même liquide donne 100, et d'autre part, il donne 18 sur lait normal, quand le ferment normal sur lait normal donne 100.

Pour montrer cette mutation brusque, nous prendrons une autre expérience poursuivie pendant vingt jours, et faite avec un ferment vivant sur une solution à 1 gramme par litre. La mutation s'est faite au douzième jour (fig. 4).

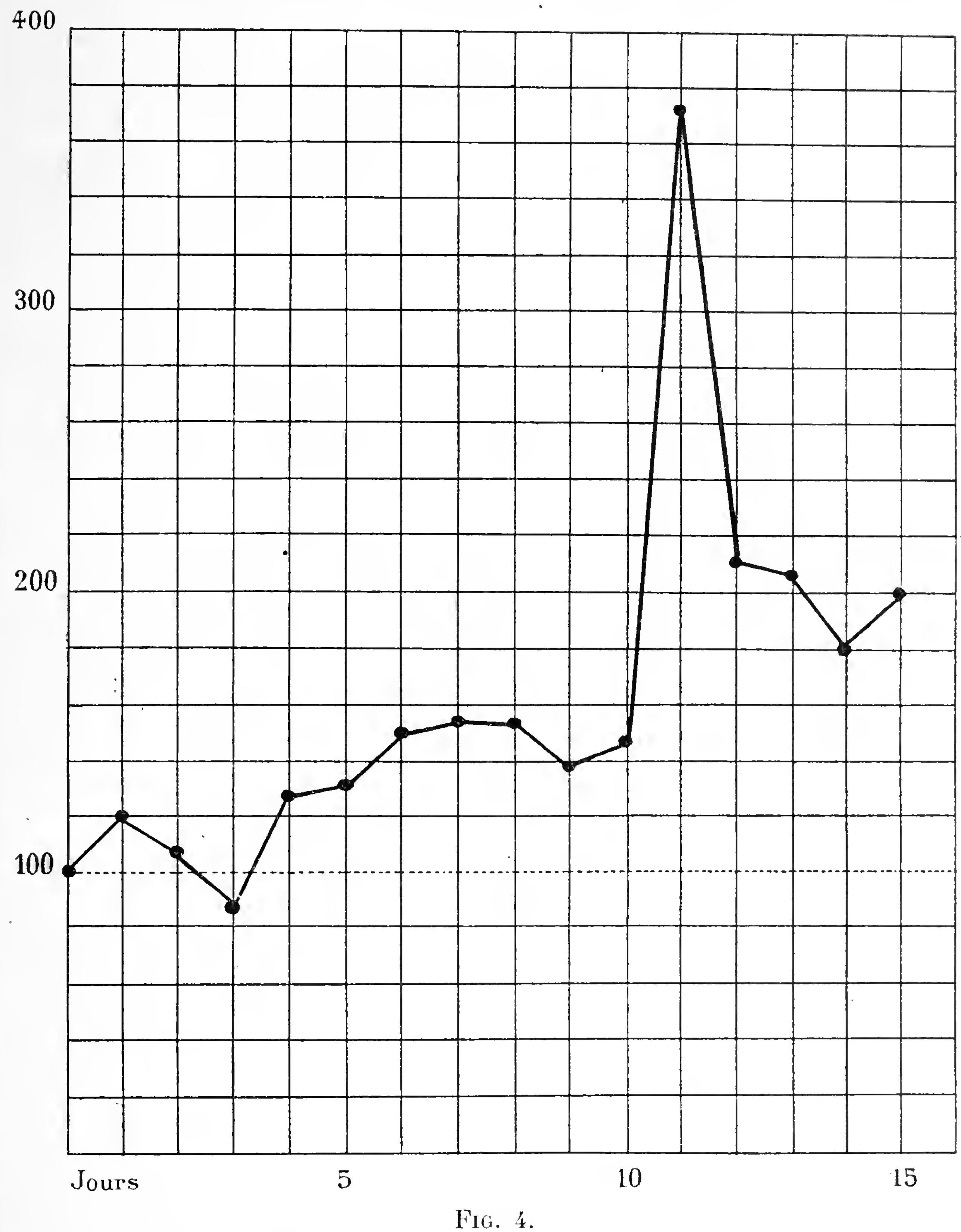


Fig. 4.

Phénomène des mutations brusques. En bas les jours. Toutes les fermentations ont été sur lait additionné de 0 gr. 5 par litre de nitrate de thallium. Le trait pointillé est le croît = 100 du ferment normal sur ce même milieu. Le trait plein est la courbe du ferment habitué. On voit qu'il s'habitue de plus en plus, et que du 10e au 11e jour, il y a une mutation brusque.

	0 gr. 00	0 gr. 25	0 gr. 5	1 gr. 0
Dix premiers jours (moyenne)	98	121	129	187
Onzième jour	94	126	148	124
Douzième jour	67	133	370	1.000
Huit jours suivants (moyenne).	67	140	181	480

Ainsi les chiffres du douzième jour ressemblent beaucoup aux chiffres des dix jours précédents. Mais soudain, du onzième au douzième jour, tout change, et l'accoutumance très forte se déclare, et cela de deux manières, aussi bien par la végétation plus faible dans du lait normal, que par la végétation plus active dans du lait toxique.

C'est, je crois, uniquement par l'hypothèse de brusques mutations que peut s'expliquer un phénomène singulier qui, dans l'histoire de la fermentation lactique, m'a embarrassé pendant longtemps.

Soit une solution d'azotate de thallium, ou de sulfate de cuivre, ou surtout d'arséniate de potasse, assez toxique pour que le ferment ne végète qu'imparfaitement, 40 p. 100 par exemple de l'activité du témoin. Si l'on a ensemencé avec le même ferment non habitué un grand nombre de tubes, il s'en trouvera dans le nombre un ou deux qui auront végété avec une très grande intensité, de manière à atteindre une acidité de 200 et même 300.

Autrement dit il y a dans les solutions toxiques un écart beaucoup plus grand, trois ou quatre fois plus grand que dans les solutions non toxiques.

Cela signifie que le ferment, sous des influences que nous ignorons, s'est tout d'un coup habitué, dans tels ou tels tubes de fermentation, et a subi là une mutation brusque.

Je pourrais multiplier les exemples, car les mensurations prises sont extrêmement nombreuses. J'en ai près de 2.500 rien que pour le thallium. Ce n'est pas un des moindres avantages de cette méthode que de permettre une expérimentation multiple. La préparation des solutions est facile ; le dosage, très facile aussi ; le matériel, très simple. De sorte qu'on peut sans peine faire une centaine de dosages par jour : en un mois on a réuni un assez grand nombre de chiffres pour autoriser une conclusion.

Et cette conclusion, très importante au point de vue de la biologie générale, c'est que le ferment lactique, comme probablement toute cellule vivante, est plastique, malléable, docile. On l'accoutume aux poisons, on change ses réactions, et sa descendance modifiée devient différente de la race primitive.

Mais cette modification paraît être brusque, rapide, succédant à de plus ou moins longues périodes d'uniformité, et cela confirme l'opinion des botanistes et des biologistes que les mutations héréditaires ne sont pas progressives, mais soudaines.

La révolution ou, si l'on veut, l'évolution s'opère brutalement : *Natura facit saltus.*

SPOROZOAIRES DE *GLOSSOBALANUS MINUTUS* KOW.

EIMERIA EPIDERMICA N. SP.; *EIMERIA BEAUCHAMPI* N. SP. *SELENIDIUM METCHNIKOVI* N. SP.

par L. LÉGER et O. DUBOSCQ,

(Avec les planches I-III.)

Dans sa monographie de la faune de Naples, Spengel (1893) a signalé plusieurs Protozoaires parasites des Entéropneustes. D'abord deux Grégarines monocystidées, l'une chez *Glossobalanus clavigerus* DELLE CHIAJE, l'autre chez *Balanoglossus Kupfferi* v. WILL. SUHM. Il les rapporte au genre *Monocystis* sans avoir pu les caractériser spécifiquement. Il a vu, en outre, des corps oviformes uninucléés (1), d'une part, dans le sillon cilié de *Glossobalanus sarniensis* KŒHLER, d'autre part, dans l'œsophage de *Glandiceps Hacksi* MARION. Il les attribue avec raison à des Sporozoaires sans se prononcer sur leur nature coccidienne ou grégarinienne.

Chez *Glossobalanus minutus* Kow., Spengel (1884-1893) n'a observé — et seulement dans la cavité générale — qu'un parasite particulier, classé provisoirement dans les Haplosporidies par Caullery et Mesnil (1900-1904-1905) qui l'ont retrouvé. A. Sun (1910) l'a appelé *Protoentospora ptychoderæ* et lui attribue l'évolution suivante : Dans la cavité générale de l'hôte, le parasite uninucléé se reproduit par division simple. Puis il forme des spores. Alors, « fait très intéressant », dit l'auteur, « avant la formation des spores le parasite, dans la plupart des cas, sort de la cavité générale et pénètre aussi bien dans l'épithélium intestinal que dans l'épithélium de la trompe et du

(1) SPENGEL pense avoir vu aussi des stades plurinucléés du Sporozoaire de *Glandiceps Hacksi*, mais la figure qu'il en donne n'est pas démonstrative et représente peut-être une Coccidie uninucléée avec gros corps chromatoïdes.

collier ». De grains chromidiaux émis par le noyau primaire naîtraient de nombreux noyaux, qui fournissent les spores ovalaires groupés régulièrement à la surface du parasite.

Le travail de Mlle Sun nous rend perplexes. Comme il a été fait sous la direction de notre collègue Awerinzew, il nous est difficile de croire à une méprise. Cependant nous avouerons que nous nous sommes demandé ceci : Mlle Sun n aurait-elle pas mis bout à bout, pour en faire un cycle, des stades uninucléés du parasite cœlomique de Spengel et la schizogonie incomplète de la Coccidie que nous décrirons tout à l'heure sous le nom d'*Eimeria epidermica*? Certes, il faudrait admettre que l'auteur a pris des noyaux pour des spores. Mais justement les noyaux d'*Eimeria epidermica*, surmontés de leur centrosome, ont à un certain stade, avec leur membrane bien définie, la forme des spores de *Protoentospora*. Nous n'osons insister. Mais, si l'erreur était admise, nous nous expliquerions très bien les images données par Mlle Sun, tant elles coïncident avec celles que nous donnons plus loin en les interprétant tout autrement.

Nous avons revu, très abondants, les stades cœlomiques de *Protoentospora*. Ils sont tous uninucléés, ou binucléés à la suite d'une division promitotique. Sur ce point, nous sommes d'accord avec A. Sun. Par contre, nous n'avons jamais observé le passage de ces parasites dans l'épithélium intestinal ou dans l'épiderme. Ce que nous avons vu dans ces épithéliums, et communément, c'est un parasite bien distinct du premier, une Coccidie que nous appelons *Eimeria epidermica* n. sp. Nous avons trouvé, d'ailleurs, encore deux Sporozoaires chez les *Glossobalanus minutus* : une autre Coccidie *Eimeria Beauchampi* n. sp. et une Schizogrégarine, *Selenidium Metchnikovi* n. sp. Nous les décrirons ici brièvement.

Eimeria (?) **epidermica** *n. sp.* (pl. I).

En étudiant l'épiderme de la trompe d'un *Glossobalanus minutus*, provenant de Cavalière, nous avons eu la surprise de le trouver farci des stades schizogoniques de la Coccidie que nous proposons d'appeler *Eimeria* (?) *epidermica* n. sp. Cette Coccidie est certainement une bonne espèce. Quelques-uns de

ses caractères semblent même indiquer qu'elle appartient à un genre nouveau, mais ne voulant pas le créer sans la connaissance de la sporogonie, nous rapporterons notre Coccidie au grand genre *Eimeria* qui n'aura ici d'autre sens que celui de Coccidie *incerti generis*.

Deux mots d'abord de l'épiderme lui-même.

A la base de la trompe, il est très épais, ainsi que la basale nerveuse qui lui correspond (A, pl. I). Avec Spengel, nous reconnaissons, en dehors des nombreuses cellules dites indifférentes, et dont beaucoup sont sans doute sensorielles, plusieurs sortes de cellules glandulaires. Les unes, cellules muqueuses (*m*, A, pl. I), ont leur contenu homogène, les autres, cellules granuleuses (*g*, A, pl. I), ont une sécrétion plus ou moins sidérophile, qui, dans certains cas, pourrait être prise, à un examen superficiel, pour des éléments parasitaires. Signalons, en particulier, des cellules à gros cristalloïdes en rhabdites que Spengel (1893) a d'ailleurs décrites chez *Glandiceps Hacksi* et qui existent çà et là dans l'épiderme des *Glossobalanus*.

Il serait important de bien connaître l'évolution des diverses cellules. Pour nous, la situation du corps renflé de la cellule, c'est-à-dire de son noyau, indique généralement son âge. Les cellules jeunes ont leur noyau au voisinage de la basale. En vieillissant, le corps cellulaire s'élève vers l'extérieur et cette ascension des cellules doit repousser progressivement, devant leurs corps renflés, les parasites intracellulaires dont la cellule hôte, dégénérée, a perdu tout contact avec la basale. Cette évolution cellulaire est démontrée par la répartition des stades du parasite. Les jeunes stades (1, 4, A, pl. I) se rencontrent toujours dans les régions voisines de la basale. Tous les stades terminaux de la schizogonie (9, 12, A, pl. I) sont au voisinage du plateau cilié. Les schizozoïtes ont donc chance d'être rejetés à l'extérieur. Quoi qu'il en soit, beaucoup d'entre eux regagnent la profondeur de l'épiderme après dissociation du barillet et, ainsi, l'infestation se propage avec intensité.

La migration des éléments, telle que nous venons de la décrire, laisse penser que l'évolution schizogonique n'est pas rapide. L'étude des divers stades nous conduira à la même conclusion.

Nous observons comme stades successifs :

1° Des stades à cytoplasme uniformément granuleux, éosinophile. Les plus jeunes, mesurant 5 μ, sont réniformes et leur noyau, sans membrane différenciée, montre un seul nucléole (karyosome) massif, sidérophile, et de petits grains de chromatine peu colorable (1, pl. I). En s'accroissant le parasite devient ovoïde (2, B, pl. I).

2° Des stades fusiformes dont le noyau est pourvu d'un nucléole principal vésiculaire et au moins d'un nucléole ou karyosome accessoire. Il y a deux sortes de nucléoles accessoires. L'un, assez constant dans les grands stades, a la forme d'une calotte chromatique et reste situé contre le nucléole principal, tandis que l'autre, sphérique, en est éloigné (3, 4, 5, 6, pl. I). Nous (1903) avions déjà signalé la calotte chromatique dans le noyau de l'*Adelina dimidiata* A. Schneid. Moroff (1906) et Schellack (1913) ont longuement discuté cette formation en même temps que la valeur respective des nucléoles. La calotte chromatique est pour Moroff un nucléolo-centrosome, pour Schellack un amas inconstant de grains chromatiques. A notre avis, calotte chromatique et nucléole accessoire sphérique proviennent du nucléole principal et représentent une expulsion de substance chromatique dont une partie (calotte chromatique ?) est une réserve nucléaire et dont l'autre passe dans le cytoplasme (épuration nucléaire) et concourt à la formation des réserves. Mais la discussion de ces vues nous entraînerait trop loin. Signalons seulement que les deux inclusions caractéristiques du cytoplasme, grains chromatoïdes et sphérules de paramylon, ne commencent à apparaître qu'après l'émission des nucléoles secondaires par le nucléole principal (4, 5, 6, pl. I).

Le paramylon se montre sous la forme où nous (1908) l'avons décrit chez les *Aggregata* et chez les Grégarines, c'est-à-dire en sphérules dont le centre apparaît comme un grain brillant. La signification de cet éclat central reste en question. Bütschli (1906) chez les Euglènes n'y voit qu'une cavité. Kuschakewitsch (1907) chez les Grégarines confond ces grains centraux avec les grains d'excrétion. Sans mettre en doute l'interprétation de Bütschli relative aux Euglènes, nous croyons de plus en plus, pour le paramylon des Sporozoaires, à la réalité de ce grain en tant que corpuscule solide, particulièrement

réfringent — tels les pyrénoïdes. Nous avons maintenant observé cette structure chez beaucoup de Coccidies et, fait à noter ici, chez *Protoentospora ptychoderæ* dont tout le cytoplasme est bourré de paramylon à gros grains centraux réfringents (1). A. Sun paraît avoir vu ces grains qu'elle interprète comme produits du métabolisme cellulaire (Stoffwechselprodukte).

3° Des stades de multiplication nucléaire. Nous avons rencontré deux fois un stade à deux noyaux (7, pl. I), preuve que la division est binaire. Aujourd'hui, la division multiple, telle que l'ont décrite les anciens auteurs, n'est plus acceptée que sous réserves [Cf. Debaisieux (1911)] Schellack et Reichenow (1913)]. Pour notre part nous l'avons déjà observée sous la forme d'amitose multiple [(Léger et Duboscq (1910)].

La multiplication nucléaire se poursuit selon le mode promitotique et, après les divisions, les stades de repos sont d'abord représentés par un gros karyosome au centre d'une area claire (8, pl. I) (2). Finalement se reconstituent des noyaux vésiculeux avec nombreux grains chromatiques et très petit nucléole (9, pl. I). Puis ces noyaux deviennent ovales ou même piriformes (10, pl. I). C'est qu'alors est apparu, au sommet du noyau, un granule simple ou double, qui est certainement le centrosome. En correspondance avec les noyaux, des élevures cytoplasmiques mamelonnent le cytoplasme pendant que les noyaux s'allongent encore (11, pl. I) et ont de plus en plus une membrane nette. Une telle évolution doit durer longtemps, à l'opposé de ce qui se passe chez les autres Coccidies.

Dans ces stades successifs de la multiplication nucléaire, les grains chromatoïdes se rassemblent au centre du parasite en quelques grosses sphérules sidérophiles. Bientôt on n'en voit plus que deux (10, pl. I) et finalement qu'une seule (11, pl. I).

4° Le stade terminal est le barillet classique (12, pl. I). Les schizozoïtes, au nombre d'une vingtaine, mesurent 10 μ environ. A la base du bouquet s'observe toujours la grosse sphérule chromatique, reliquat des grains chromatoïdes.

(1) La présence du paramylon ne permet pas de douter de la nature parasitaire de *Protoentospora*, qui, malgré sa division binaire, pourrait bien être un Sporozoaire au sens strict du mot.

(2) Cette figure 8 pourrait bien se rapporter à un microgamétocyte. Si nous avons hésité à adopter cette interprétation, c'est que nous n'avons vu aucun autre stade gamogonique.

Eimeria epidermica, déjà bien caractérisée par ses noyaux et sa substance chromatoïde, l'est surtout par sa distribution. Nous avons dit que nous ne l'avions trouvée que dans un exemplaire de *Glossobalanus minutus* provenant de Cavalière. Le matériel de A. Sun provenait de Naples et peut-être aussi de Villefranche. *Eimeria epidermica* ne paraît donc exister que dans la Méditerranée (1). Le fait caractéristique, c'est sa situation dans l'hôte. Elle est particulièrement abondante dans l'épiderme du gland (A, pl. I), encore fréquente dans l'épiderme du collier, puis disparaît dans l'épiderme du reste du corps. Mais on en retrouve quelques stades absolument caractéristiques (stades à un ou plusieurs noyaux et barillets) dans la partie antérieure du sillon cilié. Cette distribution d'*Eimeria epidermica* coïncide donc complètement avec les soi-disant stades épithéliaux de *Protoentospora* [Cf. A. Sun (1910)]. Ne pouvant accepter l'interprétation de M[lle] Sun, nous concluons que nous avons affaire à une Coccidie d'abord intestinale et se propageant ensuite au tégument externe, sans doute par les fentes branchiales. Les schizozoïtes sont-ils entraînés par le courant d'eau loin de leur point d'origine, ou bien faut-il admettre une propagation toujours intraépithéliale, selon les vues de Schellack et Reichenow (1913)? Rien ne nous permet d'en décider.

Comme on le sait, les Sporozoaires (*sensu stricto*) de l'épiderme sont une rareté. La seule Coccidie bien définie qui puisse passer dans le tégument externe est l'*Adelea Mesnili* que Pérez (1903) nous a fait connaître. Darboux (1899) a signalé dans l'épiderme de *Leanira Giardi* et de *Lepidonotus clava* des inclusions qui semblent bien être des Sporozoaires. Mac Intosh (1885) en avait vu sans doute aussi avant lui. Malheureusement ces parasites restent indéterminables. Nous (1914) avons fait connaître récemment un Sporozoaire très particulier, *Spirocystis nidula* LÉGER et DUBOSCQ, dont certains stades sont épidermiques : mais nous le rattachons aux Schizogrégarines.

(1) Il n'en est pas de même de *Protoentospora ptychoderæ*, qui nous est apparu comme parasite constant des *Gl. minutus* de l'Océan et de la Méditerranée. Caullery et Mesnil (1904) notent son absence dans les *Glossobalanus* de Toulon et de Saint-Jean-de-Luz, mais leur matériel était insuffisant pour la recherche des *Protoentospora*. De Toulon, ils n'ont eu qu'un court fragment fortement contracté et les exemplaires de Saint-Jean-de-Luz, fournis par de St-Joseph, étaient mal conservés.

Ces quelques Sporozoaires n'ont pas une grande action sur l'épithélium externe. Ils causent tout au plus l'altération de la cellule hôte ou des cellules voisines (*Spirocystis*) sans déterminer de prolifération cellulaire. Il en est de même d'*Eimeria epidermica*. Son action est surtout mécanique. Malgré son abondance, elle altère si peu l'épiderme du gland que nous n'avons pas toujours su reconnaître les cellules parasitées. Il pourrait même se faire que dans certains cas la Coccidie fût intercellulaire.

Cette rareté des Sporozoaires épidermiques et leur innocuité doivent être soulignées, puisque certains travailleurs s'obstinent à attribuer à des parasites coccidiens ou grégariniens la cause des cancers épithéliaux.

Eimeria (?) **Beauchampi** *n. sp.* (pl. II).

Nous devons à M. de Beauchamp une bonne partie des *Glossobalanus minutus* que nous avons pu examiner. Il a récolté ces Balanoglosses à Roscoff et à Saint-Jean-de-Luz. Ceux de Roscoff, à un examen d'ailleurs superficiel, ne nous ont pas paru parasités. Dans ceux de Saint-Jean-de-Luz, indépendamment de *Protoentospora ptychoderæ*, toujours uninucléé et cœlomique, nous avons trouvé une Coccidie et une Schizogrégarine. Ces deux Sporozoaires sont très reconnaissables et méritent d'être étiquetés puisqu'ils sont nouveaux. Nous appellerons la Coccidie *Eimeria* (?) *Beauchampi* n. sp., la dédiant au zoologiste qui nous a fourni si obligeamment un matériel rare.

De l'*Eimeria Beauchampi* nous connaissons la schizogonie et les gamontes. Comme nous n'avons pu trouver ni les gamètes, ni les spores, l'attribution générique reste incertaine.

Nous ne trouvons *Eimeria Beauchampi* que dans les cæcums hépatiques. Elle en farcit l'épithélium, dont elle modifie la structure. Au lieu de cellules étroites avec noyaux à diverses hauteurs, l'épithélium infesté a ses cellules uniformément hypertrophiées avec noyau régulièrement basal (1, 2, pl. II). Dans une région il est rempli de schizontes (1, pl. II). Dans un autre point, on ne voit que des gamontes (2, pl. II).

La schizogonie a ceci de particulier qu'elle est représentée

par des éléments excessivement petits. Le *Cryptosporidium parvum* de Tyzzer (1912) est la seule Coccidie que nous connaissions avec des schizontes de cette taille.

Les schizozoïtes sont de petits vermicules de 3 μ (*a*, 1, pl. II). Une de leurs extrémités est effilée, l'autre obtuse, et le noyau, à chromatine en plaques périphériques, occupe le milieu du corps. Les divers schizozoïtes, issus d'un bouquet, paraissent bien se développer sur place ou gagner tout au plus une cellule voisine. Jamais nous n'avons observé de mérozoïtes dans la lumière intestinale, malgré l'intensité de l'infestation. Ces faits sont favorables aux vues de Schellack et Reichenow (1913) sur la propagation purement épithéliale.

Les cellules parasitées contiennent chacune un nombre assez grand, souvent une dizaine, de schizontes en développement. Le mérozoïte se transforme en boule de bonne heure et l'on a ainsi de petits schizontes sphériques de moins de 2 μ (*c*, 1, pl. II). Souvent aussi, au début de la croissance, le jeune schizonte est incomplètement arrondi et garde encore distincte l'extrémité pointue du mérozoïte (*b*, 1, pl. II). Dans les jeunes stades sphériques le noyau s'accroît vite et occupe la plus grande partie du parasite. La chromatine se présente encore en plaques périphériques, mais le nucléole (karyosome) apparaît comme un petit grain qui sort de la chromatine et devient central. Il grossit ensuite aux dépens de la chromatine, laquelle devient indistincte à la fin de la croissance (*d*, 1, pl. II).

Dès que le schizonte uninucléé mesure 4 μ, son noyau peut entrer en division. On a bientôt des stades plurinucléés (4 à 6 noyaux) de même taille que le schizonte uninucléé (*e*, pl. II). Le Sporozoaire croît encore au moment des dernières divisions et les stades pourvus d'une douzaine de noyaux (*f*, pl. II) mesurent 5 μ ou un peu plus. Ce sont les stades terminaux qui donneront le bouquet de mérozoïtes (*g*, pl. II). La croissance pendant la multiplication nucléaire n'est pas ici aussi nette que chez beaucoup de Coccidies. Elle n'en est pas moins indéniable. A propos du *Selenococcidium*, nous (1910) avions insisté sur ce fait contraire aux idées classiques. Jollos (1909) l'avait d'ailleurs bien noté chez *Adelea ovata* et Schellack (1913) l'a confirmé pour *Adelina dimidiata* et *Barrouxia Schneideri*.

Tout près de la région où se multiplient les schizontes, on trouve dans le même épithélium des amas de gamontes. Ceux-ci contrastent par leur grande taille avec la petitesse des schizontes.

Les microgamétocytes sont très généralement ellipsoïdaux (*m*, 2, pl. II), mais le voisinage des macrogamètes qui les compriment peut leur faire prendre des aspects amïboïdes (*n.*, pl. II). Les plus grands que nous ayons vus mesuraient 17 μ de long sur 6 μ de large. Par leur forme allongée, par leur cytoplasme dense, à grains chromatoïdes petits et nombreux, ils se distinguent facilement des macrogamètes. Ceux-ci sont toujours trapus. Au début de la croissance ils ont souvent un aspect réniforme particulier avec un hile en angle dièdre (N, pl. II) et le noyau dans une des moitiés du parasite. Puis ils deviennent oviformes atteignant 24 μ de long dans leur plus grand diamètre (M, pl. II). Leurs grains chromatoïdes sont alors de taille différente. Les plus gros, se colorant en rouge par l'hémalun, doivent être de la volutine (1). Les sphérules de paramylon étant énormes sont peu nombreuses. Fait remarquable, leur nombre paraît le même chez les jeunes stades (N, pl. II) où leur taille est très petite, de sorte que l'accroissement de volume des sphérules de paramylon serait le principal facteur de l'accroissement de volume du macrogamète, le cytoplasme granuleux étant très réduit. Notons cependant la croissance concomitante du noyau avec la multiplication des grains de chromatine.

Les schizontes, qui sont très petits, déterminent l'hypertrophie de la cellule-hôte sans causer sa mort. L'infestation s'étendant à toutes les cellules d'une région donne à l'epithélium le caractère que nous avons signalé. Nous retrouvons dans les régions à gamontes la même transformation de l'épithélium, mais ici certaines cellules dégénèrent et l'on observe çà et là leurs noyaux atrophiés appliqués sur certains macrogamètes (M, fig. 2, pl. II).

(1) Nous n'avons pas fait d'étude minutieuse des inclusions chromatiques des Coccidies et nous continuons d'appeler en bloc grains chromatoïdes les granulations sidérophiles du cytoplasme. On sait que Debaisieux (1911) distingue deux sortes d'inclusions chromatiques, les granulations éosinophiles et les grains de volutine. Mais Schellack (1913) pense que les granulations éosinophiles de Debaisieux sont justement la volutine.

Selenidium Metchnikovi *n. sp.* (pl. III).

En même temps que l'*Eimeria Beauchampi* nous trouvons dans les *Glossobalanus minutus* de Saint-Jean-de-Luz un autre Sporozoaire qui, en partie du moins, pourrait être pris pour une Coccidie et qui, à notre avis, est une Schizogrégarine du genre *Selenidium*. Nous l'appellerons *Selenidium Metchnikovi* n. sp. Nous retrouvons ici tous les stades que Brasil (1907) a fait connaître chez *Selenidium Caulleryi* Brasil, c'est-à-dire, d'une part, une série de stades intracellulaires coccidiformes représentant la schizogonie (fig. 1, 2, pl. III) et d'autre part des gamontes qui, dans notre espèce, paraissent devoir être extracellulaires depuis les plus jeunes stades jusqu'à la fin du développement (fig. 2, pl. III).

Nous n'avons rencontré le *Selenidium Metchnikovi* que dans la région moyenne de l'intestin (région génitale et hépatique). On sait que le sillon cilié de l'intestin de *Glossobalanus minutus* est impair et gauche. Il est avant tout caractérisé par son épithélium, dont les cils puissants ont des racines intracellulaires très développées qu'on ne trouve pas ailleurs. Cet épithélium particulier est séparé du bourrelet droit qui le domine par une incisure où les cellules sont basses. C'est toujours dans cette incisure droite du sillon cilié ou dans les cellules voisines que se rencontrent les stades de la schizogonie. Les gamontes sont ordinairement piqués sur les cellules du voisinage de l'incisure, mais on les trouve aussi sur les cellules plus éloignées.

Stades intracellulaires (*Schizogonie*). — Les plus jeunes stades intracellulaires que nous ayons observés étaient fusiformes (*a*, fig. 2, pl. III) et mesuraient 7 μ. En s'accroissant ils deviennent piriformes (*b*, fig. 1, pl. III), c'est-à-dire qu'un des pôles s'arrondit tandis que l'autre s'effile, tendant à devenir extracellulaire.

Il semble que la jeune Grégarine s'allonge comme pour puiser les sucs directement dans la lumière intestinale. Son prolongement a la structure même du corps et renferme tous les grains de l'endoplasme. Le jeune *Selinidium* est donc com-

parable au stade du jeune *Stylorynchus* avant la migration nucléaire et son orientation est bien grégarinienne. Toutefois, si l'on compare nos observations à celles de Brasil (1907), ces jeunes *Selenidium Metchnikovi* pourraient paraître homologues aux jeunes gamontes de *Selenidium Caulleryi*. Nous ne croyons pas à cette homologie. Nous avons bien l'impression que, dans notre espèce, les gamontes doivent être extracellulaires pendant tout leur développement.

A l'appui de cette interprétation, soulignons qu'on trouve facilement des stades intermédiaires (*c*, fig. 1, pl. III) entre les stades à prolongement extracellulaire et les stades intracellulaires ovoïdes manifestement schizogoniques (*d*, fig. 2, pl. III). Ces stades uninucléés, qui mesurent 10 à 11 μ, entrent en multiplication, sans doute par division nucléaire binaire. Les premiers noyaux (*e*, fig. 1, pl. III) sont d'abord centraux, leur membrane est nette et leur chromatine périphérique comme dans les stades plus avancés où ils gagnent la surface (*f*, fig. 2, pl. III). La multiplication nucléaire cesse bientôt et, autour d'un reliquat relativement gros, se forment des schizozoïtes en nombre égal aux noyaux (12 à 16). Les schizozoïtes arqués, avec noyau postérieur, mesurent 7 μ de long et sont très élancés, caractère grégarinien.

Sous l'action du schizonte, la cellule-hôte s'altère. Son noyau hyperchromatique et atrophié s'applique sur le parasite. Il devient ainsi d'abord latéral (*e*, pl. III), puis passe progressivement (*f*, *g*, pl. III) sur la partie distale ou supérieure de la cellule parasitée, qui a perdu son orientation et sa relation avec la basale. La membrane de la cellule-hôte s'altère finalement et les schizozoïtes gagnent la lumière intestinale.

Stades extracellulaires (*Gamontes*). — Nous n'avons pas observé le début de la fixation des schizozoïtes. Mais nous trouvons, fixés sur le plateau des cellules du sillon cilié ou de son voisinage, de petits stades piriformes rappelant tout à fait des Flagellés qui auraient perdu leur flagelle (*h*, pl. III). Ils mesurent 5 μ de longueur. Leur noyau central a des caractères de noyau jeune avec grains de chromatine périphérique et nucléole très petit ou indistinct. Ces jeunes stades ressemblent vraiment aux jeunes gamontes du *Selenidium Caulleryi* et

nous croyons qu'on trouvera justifiée notre interprétation (1). Malheureusement, nous n'avons pu trouver les intermédiaires entre ces jeunes stades et les grands gamontes de 30 à 34 μ qu'on observe encore fixés sur l'épithélium. Ces grandes formes (*i*, fig. 2, pl. III), légèrement arquées après fixation, ont sur chaque face 5 stries longitudinales. Leur noyau à grand axe transversal contient un seul nucléole vésiculeux vers lequel convergent les travées de linine, chargées de grumeaux de chromatine.

Nous n'avons pas d'autres documents sur cette intéressante Grégarine. Ce que nous en connaissons nous permet de la classer dans les *Selenidium* du type *S. Caulleryi*. Et ainsi, semble indiquée la parenté des Grégarines d'Entéropneustes et des Grégarines de Polychètes.

Comme l'espèce est nouvelle, nous la dédions à M. Metchnikoff en souvenir de ses belles études sur les Balanoglosses. C'est à lui qu'on doit la découverte de l'évolution de la *Tornaria*. Il sut voir les rapports imprévus qu'ont entre eux les Entéropneustes et les Echinodermes. Sa démonstration des affinités de ces deux groupes fut si puissante que ses vues ont été des idées directrices pour la plupart des zoologistes qui ont repris l'étude de ces animaux.

AUTEURS CITÉS

BRASIL (L.), 1907. — Recherches sur le cycle évolutif des Selenidiidæ... I. La schizogonie et la croissance des gamétocytes chez *Selenidium Caulleryi* n. sp. *Arch. f. Prot.*, VIII.

BÜTSCHLI (O.), 1906. — Beiträge zur Kenntniss des Paramylons. *Arch. f. Prot.*, VII.

CAULLERY (M.) et MESNIL (F.). 1900. — Sur une nouvelle espèce de *Balanoglossus* (*B. Kœhleri*) habitant les côtes de la Manche. *C. R. S. B.*, LII.

—, 1904. — Contribution à l'étude des Entéropneustes. *Protobalanus* (n. g.) *Kœhleri* CAULL. et MESN. *Zool. Jahrb., Abth. f. Anat.*, XX.

—, 1905. — Recherches sur les Haplosporidies. *Arch Zool. Exp.* (4), IV.

DARBOUX (J.-G.), 1899. — Recherches sur les Aphroditiens. *Bull. Scient.* et *Trav. Stat. Cette Mém.*, n° 6.

DEBAISIEUX (P.), 1911. — Recherches sur les Coccidies. I. *Klossia helicina* SCHNEIDER. *Cellule*, XXVII.

(1) Rappelons cependant, à ce propos, que SPENGEL (1913) chez *Harrimania Kuppferi*, et CAULLERY et MESNIL (1904) chez *Protobalanus Kœhleri* ont vu, fixés sur l'épithélium des branchies, de leurs orifices et du tégument externe, des parasites qui paraissent être des Flagellés.

JOLLOS (V.), 1909. — Multiple Teilung und Reduktion bei *Adelea ovata* SCHNEIDER, *Arch. f. Prot.*, XV.
KUSCHAKEWITCH, 1907. — Beobachtungen über vegetative, degenerative und germinative Vorgänge bei den Gregarinen des Mehlwurmdarms. *Arch. f. Prot.*, *Supp.* I.
LÉGER (L.) et DUBOSCQ (O.), 1903. — Recherches sur les Myriapodes de Corse et leurs parasites. *Arch. Zool. Exp.*, (4), 1.
—, 1908. — L'évolution schizogonique de l'*Aggregata* (*Eucoccidium*) *Eberthi* LABBÉ. *Arch. f. Prot.*, XII.
—, 1910. — *Selenococcidium intermedium* LÉG. et DUB. et la Systématique des Sporozoaires. *Arch. Zool. Exp.* (5), V.
—, 1914. — Sur une nouvelle Grégarine à stades épidermiques et à spores monozoïques. *C. R. S. B.*, 27 février.
MOROFF (TH.), 1906. — Untersuchungen über Coccidien. I. *Adelea zonula* n. sp. *Arch. f. Prot.*, VIII.
PÉREZ (CH.), 1903. — Le cycle évolutif de l'*Adelea mesnili*. *Arch. f. Prot.*, II.
SCHELLACK (C.), 1913. — Coccidien-Untersuchnugen. II. Die Entwicklung von *Adelina dimidiata* A. SCHN, einem Coccidium aus *Scolopendra cingulata* LATR. *Arb. d. Kais. Gesundh.*, XLV.
SCHELLACK (C.) et REICHENOW (E.), 1913. — Coccidien-Untersuchungen. I. *Barrouxia Schneideri*. *Arb. d. Kais. Gesundh.*, XLIV.
SPENGEL (J.), 1893. — Die Enteropneusten des Golfes von Neapel. *Fauna und Flora Neapel* (18. Monogr.).
SUN (A.), 1910. — Ueber einen Parasiten aus der Körperhöhle von *Ptychodera minuta*. *Arch. f. Prot.*, XX.
TYZZER (E.), 1912. — *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a Coccidium found in the small intestine of the Common Mouse. *Arch. f. Prot.*, XXVI.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE I. — *Eimeria epidermica* n. sp.

A. Épiderme de la base de la trompe de *Glossobalanus minutus*, farci d'*Eimeria epidermica*; *g*, cellule glandulaire à granulations sidérophiles; *m*, cellule muqueuse; 1, 4, 6, 7, 9, 11, stades schizogoniques d'*Eimeria epidermica* × 1.350.

B. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12, Stades schizogoniques d'*Eimeria epidermica* × 2.000.

PLANCHE II. — *Eimeria Beauchampi* n. sp.

FIG. 1. — Epithélium d'un cæcum hépatique de *Gl. minutus* avec les divers stades *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *f* de la schizogonie d'*Eimeria Beauchampi* × 1.250.

FIG. 2. — Épithélium d'un cæcum hépatique de *Gl. minutus* avec microgamétocytes *m* et macrogamètes *M* d'*Eimeria Beauchampi* × 1.250.

PLANCHE III. — *Selenidium Metchnikovi* n. sp.

FIG. 1. — Incisure droite du sillon cilié de *Glossobalanus minutus* avec stades intracellulaires (schizogonie) *b*, *c*, *e*, *g* de *Selenidium Metchnikovi*.

FIG. 2. — Incisure droite du sillon cilié de *Gl. minutus* avec stades intracellulaires (schizogonie) *a*, *d*, *f*, *g* et stades extracellulaires (gamontes) ***h***, ***i*** de *Selenidium Metchnikovi*.

SUR LES BACILLES DU GROUPE FLEXNER-Y

par E. DEBAINS

(PREMIER MÉMOIRE).

L'expression univoque de « *Bacille dysentérique* » est couramment employée par certains auteurs pour désigner les bacilles de Shiga, de Flexner, de Hiss (Y), de Strong, qui sont ainsi considérés comme de simples variétés d'une même espèce. Une étude récente du bacille de Shiga (1) nous a naturellement conduit à comparer les propriétés de ces divers germes et à déterminer les caractères susceptibles de les rapprocher ou de les séparer.

Nous avons pu réunir, grâce à l'obligeance de plusieurs collègues, un certain nombre de germes appartenant au groupe Flexner-Y isolés en des temps et lieux variés.

Voici la liste de ces germes, soumis à une nouvelle identification, avec les numéros d'ordre qui leur ont été donnés.

TYPE FLEXNER. — Flexner origine (1); échantillons de l'Institut Lister (2-3); échantillon Remlinger-Dumas (4); échantillon d'Hérelle (19).

TYPE Y. — Y origine de l'Institut Rockefeller (20); autres échantillons du même Institut (21, 22); échantillons Remlinger et Dumas (5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 15); échantillons Sacquépée (17, 18); échantillon de l'Institut Pasteur (25).

Nous avons étudié parallèlement les trois germes suivants, également rencontrés dans des selles dysentériques :

TYPE STRONG. — Échantillon Sacquépée (16).

TYPE SAÏGON. — Échantillon Denier isolé à Saïgon (23).

TYPE INDÉTERMINÉ. — Échantillon Denier isolé à Saïgon (24).

Nous envisagerons successivement les *caractères généraux* de ces germes, *leur agglutinabilité* et leur *pouvoir pathogène*.

(1) M. NICOLLE, E. DEBAINS et G. LOISEAU. — Études sur le bacille de Shiga. Ces *Annales*, t. XXX, p. 364, août 1916.

CARACTÈRES GÉNÉRAUX

Il s'agit de *bacilles immobiles* et *ne prenant pas le Gram.*

CARACTÈRES DE CULTURE

GÉLOSE MARTIN.

Colonies allant du type typhique au type Coli sans aucune relation avec les propriétés biochimiques.

BOUILLON MARTIN.

Trouble uniforme toujours marqué. Voile superficiel avec l'échantillon 24; simple collerette avec les autres, sauf 9 et 16.

POMME DE TERRE.

Culture nulle avec 16; abondance variable avec les autres échantillons et sans rapport avec les caractères biochimiques; dépôt toujours visible et dont la couleur va du ton écru au brun clair.

LIQUIDE FRANKEL.

Culture nulle avec 16 et 20. Ailleurs, développement rapide, sauf pour 3 (retard de plusieurs jours). Repiquages toujours positifs (retard constant avec 3). Ordinairement culture maigre; abondance comparable à celle trouvée en bouillon Martin pour 1, 2, 4, 23; abondance plus grande pour 19 et 24.

CARACTÈRES BIOCHIMIQUES

NÉGATIFS.

Pas de liquéfaction de la gélatine, pas de modification de la gélose au rouge neutre. Pas de dégagement gazeux dans le bouillon lactosé et le bouillon glucosé (tubes à fermentation). Pas de noircissement de la gélose au plomb.

POSITIFS.

Indol.

L'indol a été recherché parallèlement par les méthodes de Salkowski et d'Ehrlich; les résultats ont été identiques et la sensibilité égale.

Des contradictions ayant été signalées à l'occasion de la

recherche de l'indol dans les cultures microbiennes (1), nous indiquons exactement la technique suivie.

Milieu de culture.

Peptone Defresne en paillettes.	25 grammes.
Eau	1 litre.
Soude normale	20 cent. cubes.

Les cultures sont examinées au bout de deux et huit jours.

Méthode d'Ehrlich.

Dans une boule à décantation de 50 à 60 cent. cubes on agite 10 cent. cubes de liquide de culture alcalinisé avec 10 cent. cubes d'éther (éther lavé successivement à la soude diluée (5 p. 100) et à l'eau distillée). On soutire le liquide aqueux, on ajoute quelques gouttes d'alcool pour détruire l'émulsion formée par l'éther. On soutire de nouveau et on filtre l'éther sur un petit entonnoir garni de coton hydrophile afin de retenir les dernières traces d'eau. A 5 cent. cubes d'éther on ajoute 3 cent. cubes de la solution suivante :

Para-diméthylaminobenzaldéhyde	4 grammes.
Alcool à 95°	380 cc.
Acide chlorhydrique pur.	80 cc.

Le mélange prend une coloration qui va du rose pâle au rouge pourpre foncé.

Méthode de Salkowski.

A 10 cent. cubes de culture on ajoute successivement 6 gouttes d'une solution de nitrite de soude au millième et 12 gouttes d'acide sulfurique pur; on attend quelques minutes et on agite avec 2 cent. cubes d'alcool amylique; celui-ci se colore en rouge; la teinte varie du rose pâle au rouge vineux foncé.

Tous les échantillons donnent de l'indol, sauf 16. Production modérée avec 5, 7, 9, 11, 15, 17, 18, 25; intensité variable, quelquefois énorme, avec les autres.

Fermentation des sucres.

Attaquent la mannite et le maltose : 1, 2, 3, 4, 19. Donc conventionnellement, ce sont des *Flexners*.

N'attaquent que la mannite : 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 15, 17, 18, 20, 21, 22, 25. Donc ce sont des *Y*.

Fait fermenter la mannite et le saccharose : 16; donc c'est un *Strong*

Fait fermenter le maltose seul : 23; c'est un *Saïgon*.

(1) Voir Albert Berthelot, Recherches sur le *Proteus Vulgaris*. Ces *Annales*, t. XXVIII, p. 839 et 909, 1914.

Fait fermenter le maltose et le saccharose : 24; c'est un *type indéterminé*.

Il convient de noter que dans le groupe Flexner-Y, les caractères saccharolytiques sont susceptibles de se modifier considérablement avec le temps; nombre d'auteurs l'ont vu, et nous également. Ces caractères ne sauraient donc être invoqués pour créer des espèces distinctes, alors surtout que toutes leurs autres propriétés tendent à rendre ces germes indiscernables les uns des autres.

AGGLUTINABILITÉ

Les « sérums Flexner » actifs ont été préparés comme précédemment les « sérums Shiga » (ces *Annales*, août 1916), c'est-à-dire sans détoxiquer les germes « alcool-éther » pour le cheval, et en les détoxiquant par la pipéridine pour les lapins.

L'immunisation du cheval s'est faite aisément; celle des lapins a comporté des pertes souvent marquées.

Pour la préparation des émulsions microbiennes, la technique de l'agglutination, voir encore ces Annales, août 1916.

Nous rappellerons seulement le mode de notation employé dans le tableau qui résume les expériences :

0 = agglutination nulle avec 10^{-2} cent. cube de sérum.

a = agglutination incomplète, mais très nette avec 10^{-2} cent. cube de sérum.

A = agglutination complète avec 10^{-2}, habituellement incomplète (rarement nulle) avec $0,5.10^{-2}$.

B = agglutination complète avec $0,5.10^{-2}$, habituellement incomplète (rarement nulle) avec 2.10^{-3}.

C = agglutination complète avec 2.10^{-3}, habituellement incomplète (rarement nulle) avec 10^{-3}.

D = agglutination complète avec 10^{-3}, habituellement incomplète (rarement nulle) avec $0,5.10^{-3}$.

E = agglutination complète avec $0,5.10^{-3}$, habituellement incomplète (rarement nulle) avec 2.10^{-4},

et ainsi de suite...

$$\left[10^{-2} = \frac{1}{100}, 0,5.10^{-2} = \frac{1}{200}, 2.10^{-3} = \frac{1}{500}, 10^{-3} = \frac{1}{1.000}, \text{etc...}\right].$$

RÉSULTAT DES EXPÉRIENCES

LECTURE DU TABLEAU

Type Flexner.

Le n° 19 se montre inagglutinable (comme le Shiga D, étudié jadis).

SÉRUMS DE CHEVAUX.

Normal. — Agglutination constante, inférieure (le plus souvent très inférieure) à l'agglutination par les deux sérums suivants.

Anti-Shiga. — Agglutination le plus souvent très marquée.

Anti-Flexner. — De même; 2 fois égale à celle du sérum anti-Shiga, 1 fois supérieure, 1 fois inférieure.

SÉRUMS DE LAPINS.

Normal. — Agglutination nulle (la valeur, d'ailleurs faible, mentionnée dans le mémoire sur le bacille de Shiga (août 1916), doit être tenue pour une exception).

Anti-Shiga. — Agglutination constante, mais toujours inférieure à l'agglutination par le sérum *anti-Flexner*.

Type Y.

SÉRUMS DE CHEVAUX.

Normal. — Agglutination constante (très faible pour le n° 12).

Anti-Shiga. — D'une façon générale dépasse de peu les valeurs observées avec le sérum normal; d'une façon relative les dépasse le plus souvent.

Anti-Flexner. — D'une façon générale dépasse toujours les valeurs observées avec le sérum normal, et, sauf dans un cas, avec le sérum anti-Shiga. D'une façon particulière, une fois le sérum anti-Shiga > le sérum anti-Flexner (n° 12); ailleurs le sérum anti-Flexner > le sérum anti-Shiga.

SÉRUMS DE LAPINS.

Normal. — Agglutination nulle (trace avec le n° 25).

Anti-Shiga. — Agglutination constante et sensiblement

aussi marquée que celle obtenue avec le sérum équin anti-Shiga, quoique les animaux aient été bien moins « poussés ».

TYPES	NUMÉROS des ÉCHANTILLONS	SÉRUMS DE CHEVAUX			SÉRUMS DE LAPINS		
		NORMAL	ANTI-SHIGA origine	ANTI-FLEXNER origine	NORMAL	ANTI-SHIGA origine	ANTI-FLEXNER origine
Flexner.	1	C	H	G		C	D
	2	B	G	G	0	B	E
	3	B	G	G	0	B	D
	4	B	D	E	0	B	F
	19	0	0	0	0	0	0
Y.	5	B	D	G	0	B	D
	6	B	C	G	0	C	E
	7	C	C	H	0	C	E
	9	B	C	D	0	D	D
	10	C	D	H	0	C	F
	11	B	C	G	0	C	D
	12	a	F	E	0	D	a
	15	B	C	G	0	C	D
	17	B	C	D	0	C	E
	18	B	B	G	0	C	D
	20	B	B	G	0	C	D
	21	B	E	H	0	B	D
	22	B	B		0	C	C
	25	C	C	G	a	D	D
Strong.	16	0	0	0	0	C	0
Saïgon.	23	E	H	G	A	E	H
Indéterminé.	24	0	0	0	0	B	0

Anti-Flexner. — D'une façon générale, l'agglutination ne dépasse que dans un certain nombre de cas la valeur maxima observée avec le sérum anti-Shiga; d'une façon particulière elle se montre le plus souvent supérieure, 3 fois égale, 1 fois inférieure (n° 12).

Type Strong.

N'est agglutiné que par le sérum anti-Shiga de lapin.

Type Saïgon.

Très agglutinable par les sérums équins, sérum anti-Shiga > sérum anti-Flexner; pour les sérums de lapins, c'est le contraire.

Type indéterminé.

N'est agglutiné que par le sérum anti-Shiga de lapin.

CONCLUSIONS

Nous laisserons de côté les trois derniers types, représentés par un seul échantillon; il ne sera question dans ce qui va suivre que des types Flexner et Y.

Le nombre des cultures Flexner étant plus faible que celui des cultures Y, on ne saurait faire état des légères différences qui se sont manifestées entre les deux types. Si l'on réunit tous les échantillons, voici quelles conclusions on peut tirer de nos expériences.

CONCLUSIONS PRATIQUES

1° — *Séro-identification avec les sérums anti-Flexner et anti-Shiga de cheval et de lapin réunis. Etude particulière sur le même échantillon.*

Un échantillon (n° 19) demeure inagglutinable; 1 échantillon (n° 12) se montre toujours plus agglutinable par les sérums anti-Shiga.

La majorité (11 cultures) se montre toujours plus agglutinable par les sérums anti-Flexner.

3 échantillons (n°s 9, 22, 25) sont plus agglutinables par le

sérum anti-Flexner cheval mais également par les sérums anti-Flexner et anti-Shiga de lapin.

3 échantillons (nos 1, 2, 3) sont plus agglutinables par le sérum anti-Flexner lapin qu'avec le sérum anti-Shiga lapin ; avec le no 1 le sérum anti-Flexner cheval > sérum anti-Shiga cheval; avec les nos 2 et 3, égalité d'action des deux sérums.

L'action, comparée sur le même échantillon, des sérums anti-Shiga et anti-Flexner de cheval et de lapin, ne peut fournir aucune indication certaine. Ce mode de séro-identification doit être rejeté en pratique.

2° *Séro-identification avec les sérums anti-Flexner de cheval et de lapin et le sérum équin normal.*

On suppose éliminée l'idée d'un bacille de Shiga par les autres caractères différentiels (caractères biochimiques — pouvoir toxique spécifique — agglutinabilité) (1).

Mêmes réflexions que plus haut pour les échantillons 19 et 12. Pour le reste : Agglutination constante par le sérum équin normal.

Valeur absolue du sérum équin anti-Flexner toujours plus grande que celle du sérum équin normal, c'est-à-dire > C (dans la majorité des cas > F).

Valeur absolue du sérum de lapin anti-Flexner toujours supérieure à celle du sérum normal de lapin (qui se montre inactif dans la règle); cette valeur dépasse toujours B et presque toujours C.

Ce mode de séro-identification, qui montre la concordance absolue des types Flexner et Y quant à leurs réactions agglutinantes, comporte une grande valeur pratique (abstraction faite, naturellement, du cas des échantillons inagglutinables).

CONCLUSIONS THÉORIQUES

Sérums de chevaux.

L'échantillon Shiga-origine contient les antigènes de tous les Flexners (sauf peut-être le no 19 inagglutinable) — et de la

(1) Rappelons qu'il existe des échantillons inagglutinables; les bacilles de Shiga agglutinables le sont spécifiquement par les sérums de Shiga et nullement par le sérum équin normal.

majorité des Y, sauf les échantillons 7, 18, 20, 22, 25 avec lesquels l'agglutination ne dépasse pas celle que fournit le sérum normal de cheval.

L'échantillon Flexner-origine contient les antigènes de tous les Flexners et Y (sauf peut-être le n° 19).

Sérums de lapins.

L'échantillon Shiga-origine contient les antigènes de tous les Flexners et Y (sauf peut-être le n° 19). Le lapin se montre donc ici un meilleur réactif des antigènes que le cheval.

L'échantillon Flexner-origine contient tous les antigènes des *Flexners et Y* (sauf peut-être le n° 19). A noter que, vis-à-vis du n° 12, le lapin se montre inférieur au cheval comme réactif des antigènes.

Les échantillons Shiga-origine et Flexner-origine contiennent donc pratiquement les antigènes de tous les *Flexners et Y* envisagés ici.

Nous avons vu (ces *Annales*, août 1916) que l'échantillon Flexner-origine, de même que l'échantillon Shiga-origine, mais à un degré beaucoup plus faible, contenait les antigènes de 8 Shigas étudiés précédemment.

A cette analogie des deux types microbiens, révélée uniquement jusqu'ici par les sérums de deux échantillons, s'opposent d'énormes différences; les unes ont été déjà mentionnées, les autres résultent de ce qui va suivre.

POUVOIR PATHOGÈNE

Nous l'avons étudié chez les lapins (animaux de 2.000 — 2.500 gr.).

L'injection sous-cutanée de 5 centigrammes de germes vivants (cultures de vingt-quatre heures à 37° sur gélose pomme de terre) demeure toujours inoffensive.

Certains échantillons tuent (régulièrement ou non) par *injection intraveineuse* à la dose de 1 centigramme; d'autres apparaissent dépourvus de toute activité, ou ne déterminent qu'une émaciation transitoire.

Échantillons actifs. — Strong, Saïgon. Échantillon indéterminé. Parmi les Flexners : 4 et 19. Parmi les Y: 6, 7, 9, 10, 11, 15, 17, 21.

L'activité baisse en général très vite à partir de l'isolement, même pour les germes conservés en gélatine à la glacière par le procédé de M. Nicolle et Adil-bey.

Les *signes et lésions* observés sont les mêmes avec toutes les cultures efficaces; *ils n'offrent d'ailleurs rien de caractéristique, contrairement à ce qui s'observe dans le cas du bacille de Shiga.*

Nous distinguerons *deux cas* : mort en quelques heures, mort en quelques jours (maximum observé : 10 jours).

Mort en quelques heures. — Cliniquement.

Diarrhée inconstante, hébétude, polypnée, mort par arrêt respiratoire. A l'autopsie le cœur bat; congestion des viscères abdominaux, retard dans la coagulation du sang.

Mort en quelques jours. — Cliniquement.

Le premier jour, accidents transitoires ou non. Puis émaciation souvent marquée. Diarrhée inconstante et sans caractère; elle suit un cours variable, tantôt elle s'installe dès le début et continue jusqu'à la mort, tantôt elle disparaît après un jour et reparaît plus tard, tantôt elle survient tardivement. Parésies rares et parfois curables avant la mort.

A l'autopsie jamais de lésions cæcales. — D'habitude rien de spécial; rarement nécroses hépatiques, ou petits abcès du foie, ou les deux.

Si l'on recherche ce que deviennent les germes *in vivo*, voici ce que l'on observe :

Sang : persistance maxima, 1 jour et demi. — *Rate* : persistance maxima, 2 jours. — *Foie* et *Bile* : — persistance plus longue (au moins 6 jours).

Tout se passe donc *pratiquement* comme si les bacilles des types Flexner et Y n'étaient pas virulents, et leurs effets pathogènes sont de nature purement toxique. Le poison en question (dont l'étude détaillée nous reste à faire) n'a rien à voir avec celui du bacille de Shiga, comme le démontre l'injection comparée des deux germes dans les veines du lapin et aussi l'expérience suivante :

On mélange à de la toxine Shiga le sérum de chevaux qui ont reçu dans les veines, pendant des mois, de fortes quantités de bacilles Flexner et Y. Ce sérum ne manifeste pas le moindre effet neutralisant. Le mélange, introduit dans les veines du lapin, est aussi actif que la toxine pure.

CONCLUSIONS

Il est donc inexact de considérer les bacilles des types Flexner et Y comme atoxiques (opinion pourtant dominante) et tout aussi erroné de tenir leur poison, reconnu, pour identique à celui du bacille de Shiga. Rappelons encore que le pouvoir toxique du bacille de Shiga garde sa valeur pendant des années sans précautions particulières, tandis que l'activité des bacilles Flexner et Y baisse très rapidement même s'ils sont conservés en gélatine.

Ni par leur fonction toxigène, ni par leurs autres caractères, les bacilles du groupe Flexner-Y ne se rapprochent du type Shiga. Les analogies incontestables dans la « Structure antigène » ne sauraient faire oublier un caractère différentiel important qui résulte de notre travail actuel et de celui qui l'a précédé : vis-à-vis du sérum équin normal les représentants du groupe Flexner-Y se montrent très agglutinables, ceux du type Shiga pas du tout.

Nous verrons, plus tard et ailleurs, que de telles analogies dans la « structure antigène » ne sont singulières qu'en apparence.

RÉSULTATS DES VACCINATIONS TRIPLES ANTITYPHOIDIQUES ET ANTIPARATYPHOIDIQUES DANS LES TROUPES D'ALGER

par EDM. SERGENT, L. NÈGRE et H. FOLEY

(Institut Pasteur d'Algérie.)

L'Armée de l'Afrique du Nord, vaccinée avant la guerre avec le vaccin antityphoïdique simple préparé au Val-de-Grâce, fut inoculée, à partir du jour de la mobilisation, avec le vaccin préparé, à la demande du médecin inspecteur général E. Calmette, par l'Institut Pasteur d'Algérie (1). Le vaccin d'Alger fut triple, antityphoïdique et antiparatyphoïdique A et B, à partir d'octobre 1914 (2).

Depuis la mobilisation jusqu'au début de juin 1916, 1.164.489 cent. cubes de ce vaccin furent délivrés à l'Armée de l'Afrique du Nord, quantité suffisante pour la vaccination de 211.719 hommes. Toutes les demandes des corps de troupe et des services ont pu être satisfaites sur-le-champ.

Les résultats de ces vaccinations sont impossibles à connaître d'une façon précise dans les corps de troupe partis sur le front. Mais nous avons pu suivre attentivement pendant les deux premières années de la guerre l'état sanitaire de la garnison d'Alger, qui envoie tous ses malades à l'hôpital Maillot, où nous assurions le service bactériologique. Le sang de tous les fiévreux présentant un état typhique a été ensemencé. Nous avons obtenu, du 25 août 1914 au 6 juin 1916, 154 hémocul-

(1) E. SERGENT et L. NÈGRE, Les vaccinations mixtes antityphoïdiques et antiparatyphoïdiques dans l'Armée de l'Afrique du Nord. *Bulletin de l'Académie de Médecine*, séance du 26 octobre 1915.

(2) Ce vaccin a été progressivement enrichi, en suivant les réactions chez les hommes vaccinés, et le vaccin d'Alger compte, depuis le 1er janvier 1916, 1.500 millions de bactéries au centimètre cube, chaque race microbienne étant en nombre égal : 500 millions de B. typhiques, 500 millions de paratyphiques A et 500 millions de paratyphiques B.

tures positives dont les germes ont été identifiés par les réactions de fermentation et d'agglutination croisée.

Il n'est pas possible de donner actuellement le chiffre de la population militaire qui a fourni ces 154 cas de typhoïde ou paratyphoïde. La vaccination étant obligatoire, presque tous les soldats ont été vaccinés : n'ont échappé, par fraude, négligence ou erreur, qu'un petit nombre de gradés et de soldats.

Il est frappant de voir que c'est cette infime minorité de non-vaccinés qui a fourni presque tous les cas d'infection typhoïdique ou paratyphoïdique. Sur 154 cas, les non-vaccinés en comptent 131, auxquels il faut joindre 17 cas de paratyphoïde survenus chez des hommes vaccinés contre la typhoïde seulement (vaccin préparé au Val-de-Grâce avant la guerre, que nous appellerons vaccin de France), et 3 cas contractés moins de deux semaines après la dernière inoculation.

Au contraire, chez les vaccinés, représentant la presque totalité des troupes d'Alger, nous ne relevons pendant le même laps de temps, soit près de deux ans, que 3 cas avérés, qui sont des fièvres typhoïdes vraies survenues chez des hommes ayant reçu le vaccin de France.

*
* *

L'étude détaillée des 154 hémocultures positives a permis un certain nombre de constatations :

I. — Les 154 hémocultures ont donné :

112 fois	le B. typhique avec	14 décès.
32 —	le para A avec	1 décès.
10 —	le para B avec	1 décès.

II. — Parmi les non-vaccinés, on peut distinguer :

A. — *Les hommes n'ayant reçu aucune inoculation.*

108 cas se décomposent en	B. typhique	92
	para A	11
	para B	5

Parmi ces hommes n'ayant reçu aucune vaccination figurent des Martiniquais, récemment arrivés de France et tous logés

dans la même caserne. Ils avaient tenu garnison dans le Midi et quelques-uns disaient avoir été vaccinés en France ; aucune pièce ne l'atteste, aucune mention ne figure sur leurs livrets. Ils constituaient donc un groupe intéressant de « témoins ». Les 35 Martiniquais atteints ont tous donné à l'hémoculture un bacille typhique typique. Ils comptent 9 décès. Autour d'eux, on n'a constaté aucun cas d'infection à bacille typhique.

Parmi les non-vaccinés, on note aussi : 23 Serbes, dont 20 ont donné le B. typhique (1 décès); 3 le para B., type Schottmüller (1 décès).

B. — *Les hommes n'ayant pas reçu toutes les inoculations.*

Cette catégorie fournit 23 cas, dont 14 B. typhique (2 décès), 7 para A (0 décès), 2 para B (0 décès).

a) *Vaccinations en cours.*

Après 1 inoculation, 6 cas : 4 B. typhique, 1 para A, 1 para B.
Après 2 inoculations, 6 cas : 5 B. typhique (1 décès), 1 para A.
Après 3 inoculations, 2 cas : 1 B. typhique, 1 para A.

b) *Vaccinations restées incomplètes.*

Après 1 inoculation : 3 cas	1 B. typhique. . . .	2 mois après,
	1 B. typhique. . . .	6 mois après,
	1 para A	1 an après.
Après 2 inoculations : 3 cas	1 para A	1 an après,
	1 para A	1 an après,
	1 para B	1 an après.
Après 3 inoculations : 3 cas	1 B. typhique. . . .	3 mois après.
	1 para A	3 mois après,
	1 B. typhique	10 mois après, 1 décès.

III. — *Les hommes ayant reçu le vaccin de France.* (Vaccin simple antityphoïdique) : 20 cas.

3 cas à B. typhique (0 décès) :
- 1 cas, 2 mois après la dernière inoculation,
- 1 cas, 13 mois après la dernière inoculation,
- 1 cas, dont les dates d'inoculation sont inconnues.

14 cas à para A (1 décès),
3 cas à para B (0 décès).

Ces 17 derniers cas ne doivent pas être portés au passif de la méthode, le vaccin étant simple et non pas triple.

IV. — Un homme a reçu en France du *vaccin sensibilisé*. Il a présenté un an plus tard une paratyphoïde A ; le vaccin ayant été sans doute simple et non triple, ce cas ne doit pas être porté au passif de la méthode.

V. — *Les hommes ayant reçu le vaccin mixte antityphoïdique et antiparatyphoïdique préparé à Alger* :

Trois cas à B. typhique (0 décès).

1 cas : 8 jours après la dernière inoculation.
1 cas : début apparent de la maladie, 23 jours après la dernière inoculation.
1 cas : début apparent, 25 jours après la dernière inoculation.

Ces 3 cas ne doivent pas être portés au passif de la méthode, la contamination ayant eu lieu moins de deux semaines après la dernière inoculation vaccinale, c'est-à-dire avant que l'immunité ait été acquise.

*
* *

En conclusion, dans les corps de troupes de la garnison d'Alger, presque tous les hommes ont reçu depuis la mobilisation le vaccin triple antityphoïdique et antiparatyphoïdique de l'Institut Pasteur d'Alger. Aucun homme ayant reçu en temps voulu les inoculations n'a présenté de typhoïde ni de paratyphoïde. Parmi la très petite minorité d'hommes qui ont échappé complètement ou incomplètement à la vaccination, 131 ont été atteints. Les hémocultures ont donné chez ces 131 non-vaccinés : 106 fois le B. typhique, 18 fois le paratyphique A, et 7 fois le paratyphique B.

ÉTUDE

DE 154 GERMES TYPHIQUES OU PARATYPHIQUES ISOLÉS PAR HÉMOCULTURE, A ALGER

par H. FOLEY et L. NÈGRE.

(Institut Pasteur d'Algérie.)

Dans une précédente Note (voir ci-dessus), nous avons donné les résultats des hémocultures pratiquées depuis août 1914 jusqu'à juin 1916 dans le Service des typhiques de l'hôpital Maillot, au point de vue de la vaccination antityphoïdique. Nous étudierons dans ce travail les caractères des germes isolés.

Technique. — Les hémocultures étaient faites en tubes de bile de bœuf par ensemencement de 5 à 10 cent. cubes de sang du malade. Vingt-quatre heures après, repiquage en bouillon puis ensemencement sur gélose pour isolement définitif du germe, qui était étudié au point de vue de ses réactions d'agglutination, de ses caractères culturaux et de ses actions biochimiques. Pour cela, il était ensemencé dans les milieux suivants : gélatine, pomme de terre, artichaut, gélose lactosée tournesolée, gélose glucosée au rouge neutre, gélose au plomb, lait, petit-lait tournesolé.

L'action sur les sucres était recherchée sur la dulcite et l'arabinose, et, au point de vue du dégagement des gaz, sur le lactose et le glucose. Afin d'éviter toute cause d'erreur, nous ne nous sommes servis dans les ensemencements en milieux sucrés que de bouillon macéré. Pour observer le moindre dégagement de gaz, nous avons employé un petit tube, plein du liquide de culture, renversé dans le tube à essai contenant le milieu.

Sur 154 hémocultures, nous avons isolé :

111 races d'Eberth,
32 races de paratyphique A,
11 races de paratyphique B.

ce qui donne une proportion de :

72 p. 100 pour l'Eberth,
20,5 p. 100 pour le paratyphique A,
7,5 p. 100 pour le paratyphique B.

Eberth. — Les 111 races d'Eberth isolées ont présenté les caractères classiques connus : en pomme de terre, culture peu visible se manifestant par un enduit brillant. L'artichaut n'est pas verdi. La gélose glucosée au rouge neutre n'est pas modifiée. Au bout de 8 jours cependant, légère décoloration. La gélose au plomb est noircie et n'éclate pas; le lait n'est pas modifié ; le petit-lait tournesolé n'est pas viré. En milieux lactosé et glucosé, pas de dégagement de gaz. En milieux à la dulcite et à l'arabinose, pas de fermentation.

Caractères atypiques. — Un certain nombre de ces races ont légèrement rougi le petit-lait tournesolé.

Paratyphiques A. — Les 32 races isolées ont présenté les caractères suivants : en pomme de terre, trace luisante peu visible. Sur artichaut, pas de verdissement. En gélose glucosée au rouge neutre, dégagement de quelques bulles de gaz, décoloration et fluorescence au bout de 36 à 48 heures. La gélose au plomb éclate souvent, mais n'est jamais noircie. Le lait ne subit pas de modification. Le petit-lait tournesolé est légèrement rougi. En milieu glucosé dégagement de gaz abondant.

L'arabinose fermente dans les 24 heures. Dans un cas, elle n'a viré qu'au bout de 5 jours. La dulcite fermente tardivement au bout de 3 à 5 jours.

Caractères atypiques. — Dans un tiers des cas environ, nous avons observé un très léger dégagement de gaz en milieu lactosé. Une race n'a pas fait fermenter la dulcite.

Paratyphiques B. — Sur les 11 races isolées, 7 ont présenté les caractères classiques : en pomme de terre, culture jaunâtre épaisse. Sur artichaut, verdissement en 3 ou 4 jours. En gélose

glucosée au rouge neutre, dégagement de bulles de gaz, décoloration et fluorescence ; la gélose au plomb est noircie, le petit-lait tournesolé rougit, puis bleuit, la dulcite et l'arabinose fermentent rapidement.

Races atypiques. — Trois races, isolées toutes trois chez des Serbes, ont présenté les caractères classiques des para B mais n'ont pas fait fermenter la dulcite et ont donné un dégagement de gaz avec le lactose.

Ces trois races n'ont pas été agglutinées par le sérum anti-para B, mais par un sérum préparé avec la race de Schottmüller. Les sérums préparés avec ces trois races agglutinaient la race Schottmüller au même taux que les deux autres races.

Une quatrième race de para B, isolée chez un malade présentant de l'ictère grave, a, comme les races précédentes, donné un léger dégagement de gaz en milieu lactosé mais elle a fait fermenter la dulcite. Elle n'a été agglutinée ni par le sérum anti-Eberth, ni par les sérums antipara A, antipara B et anti-Schottmüller.

Épreuves d'agglutination. — A part ces quatre dernières races de paratyphiques B, qui se sont séparées des autres par leurs caractères anormaux d'agglutination, toutes les races d'Eberth et de paratyphiques A et B isolées ont été agglutinées par les sérums spécifiques correspondants.

Nous avons cependant observé un certain nombre de réactions anormales qui nous paraissent d'autant plus devoir retenir l'attention qu'elles se sont manifestées pour des germes isolés chez des sujets vaccinés.

Pour ces races, l'épreuve de l'agglutination au moment de l'isolement donnait un phénomène d'interversion.

Ainsi, une race ayant présenté tous les caractères culturaux et biologiques du para B était agglutinée à un taux plus élevé (1/5.000) par le sérum anti-Eberth que par le sérum antipara B (1/100). Au bout d'un certain nombre de repiquages, ces réactions d'agglutination ont disparu et ces races n'ont plus été agglutinées que par le sérum correspondant au taux d'agglutination de ce sérum.

Il semblerait qu'il y a dans l'organisme du vacciné une sensibilisation spéciale du germe isolé, sensibilisation qui dispa-

raît au cours des repiquages. Ce phénomène n'a été observé que pour des races d'Eberth et de paratyphiques B, mais a été surtout accusé pour les races de paratyphiques B.

En résumé, sur ces 154 races isolées par hémoculture en Algérie, nous avons observé :

1° Une action de certaines races d'Eberth sur le petit-lait tournesolé, qui vire légèrement au rouge ;

2° Une race de paratyphique A n'ayant aucune action sur la dulcite ;

3° Quatre races atypiques de paratyphiques B, une isolée chez un malade présentant de l'ictère grave; les trois autres, du groupe Schottmüller, chez des Serbes;

4° Un léger dégagement de gaz dans les cultures en milieu lactosé de certaines races de paratyphiques A et B ;

5° L'agglutination a confirmé les résultats d'identification des germes par les action biochimiques ;

6° Certains germes Eberth et surtout para B, isolés chez des sujets vaccinés, présentent une interversion dans leurs propriétés agglutinatives par les sérums spécifiques au moment de l'isolement. Cette anomalie disparaît au cours de repiquages successifs.

PHÉNOMÈNES D'OXYDATION ET DE RÉDUCTION DANS LES TISSUS VÉGÉTAUX

PREMIÈRE PARTIE

MÉCANISME DE LA RÉACTION

par JULES WOLFF.

Dans un mémoire publié dans ces *Annales* (1), relatif à un nouveau mode d'action de la peroxydase, j'avais exprimé quelque doute sur l'importance attribuée jusqu'ici aux peroxydes dans les végétaux. Depuis lors, appuyée sur de nouvelles expériences, cette opinion s'est trouvée pleinement justifiée. Je me suis rendu compte en effet que les phénomènes sur lesquels se sont basés les divers expérimentateurs (2) pour proclamer l'existence normale des peroxydes dans les végétaux avaient été mal interprétés. Autrement dit : Si la constatation des faits était exacte, leur interprétation ne l'était pas. Trompé moi-même par la croyance de nombreux auteurs à l'existence des peroxydes, j'ai partagé longtemps leur manière de voir. Kastle et Lœwenhardt les premiers, et ensuite Bach et Chodat, ont constaté que les coupes fraîches de certains végétaux colorent en bleu un papier imprégné d'amidon et d'iodure de potassium. Comme le même papier se colore aussi en bleu sous l'influence de l'eau oxygénée, ils en ont tiré la conclusion que les végétaux devaient contenir un peroxyde assez fugace, agissant sur le réactif à la manière de l'eau oxygénée. D'autre part, Aso (3), ayant constaté que les bourgeons de *Sagittaria officinalis* contenaient des nitrites, mit sur le compte de ceux-ci la réaction observée par Bach et

(1) Tome XXVII, juillet 1913, p. 554.
(2) A. Bach et R. Chodat, Ueber Peroxydbildung in der lebenden Zelle, *Berichte*, t. XXV, p. 2466, 1902.
(3) Aso, *Beihefte z. bot. Centralblatt*, t. XV, p. 208 à 214.

Chodat. On sait en effet que les nitrites, sous l'influence d'une faible acidité, donnent naissance à la même réaction. Mazé constata à son tour que le suc de quelques végétaux peut colorer en bleu, en milieu acide, une solution d'iodure de potassium amidonnée. Comme il observa en même temps dans les végétaux l'existence de la peroxydase, il crut d'abord être en présence du fameux système « peroxyde-peroxydase » qui, d'après Bach et Chodat, se comporterait comme une oxydase (la laccase). En poursuivant ses expériences, il se rangea à l'avis d'Aso et attribua aux nitrites et non à un peroxyde la réaction bleue qu'il avait observée à l'aide du réactif de Trommsdorf. Il parvint en effet à caractériser les nitrites (1), particulièrement dans des sucs végétaux conservés aseptiquement, à l'aide du réactif si sensible de Griess. Il confirmait ainsi, en les étendant, les expériences et l'opinion d'Aso. D'ailleurs, Em. Laurent (2) avait déjà signalé, dès 1890, la présence de nitrites dans les pommes de terre et les radis roses (3) et il a constaté le premier que les nitrates sont réduits à l'état de nitrites dans les végétaux.

N. B. — A. Bach a découvert récemment le mécanisme de ce phénomène, qui serait dû à l'action combinée d'un ferment, la redukase et d'un coenzyme. Il a même pu en mesurer les effets, qui, à la vérité, sont minimes (*Archives des Sciences physiques et naturelles*, Genève, t. XXXII, mai 1911 ; t. XXXVII, mai 1914).

Un souci strict d'impartialité, que je n'ai pas toujours rencontré chez d'autres, me fait un devoir de signaler la part qui revient à chacun de ces savants dans l'étude de ces phénomènes.

Je m'empresse d'ajouter que les proportions de nitrites décelables par le procédé de Griess peuvent être extrêmement faibles et que la sensibilité extrême du réactif peut laisser subsister des doutes au sujet de l'importance du rôle des nitrites. Quoi qu'il en soit, je montrerai que, *dans la grande majorité des cas*, la coloration bleue que l'on observe dans les sucs végétaux frais à l'aide du réactif à l'iodure de potassium

(1) P. Mazé, Recherches sur la présence d'acide nitreux dans la sève des végétaux supérieurs. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLV, p. 781, 1912.

(2) Em. Laurent, Expériences sur la réduction des nitrates par les végétaux. Ces *Annales*, t. IV, p. 722, 1890.

(3) Laurent, *loco citato*.

amidonné n'est due ni à la présence de peroxydes, ni à celle de nitrites, mais qu'elle est la résultante d'un phénomène complexe où un composé phénolique joue le rôle capital. Après avoir étudié et déterminé le mécanisme de ce phénomène, j'ai pu reproduire artificiellement, avec des composés bien définis, les différentes phases de la réaction. Ayant ainsi déterminé les relations de cause à effet, il m'a été possible de reproduire la réaction chez un grand nombre de végétaux, alors même qu'un premier examen m'avait fourni des résultats négatifs. Pour réussir cette réaction, il faut faire intervenir, en dehors du réactif ioduré, trois facteurs indispensables : 1° un diphénol; 2° une oxydase (la laccase); 3° un acide (quelquefois un sel acide suffit).

Si l'un de ces trois facteurs fait défaut, on n'observe pas la réaction, mais si on l'ajoute artificiellement au suc, la réaction se produit aussitôt.

C'est ainsi que dans un grand nombre de tissus ou d'extraits végétaux où l'un ou l'autre de ces facteurs faisait défaut, je n'ai pu observer la réaction qu'après avoir ajouté celui qui manquait.

Pour bien fixer les idées, je décrirai d'abord une expérience faite in vitro *avec des composés bien connus, après quoi j'en expliquerai le mécanisme.*

Expérience :

Verser dans un tube à essai 2 cent. cubes d'une solution à 1 p. 1.000 de pyrocatéchine, ajouter 2 ou 3 gouttes d'une macération glycérinée de champignons riches en laccase, 5 gouttes d'une solution d'amidon soluble à 2 p. 100 contenant 2,5 à 3 p. 100 d'iodure de potassium et 3 gouttes d'une solution normale d'acide acétique. La coloration bleue se manifeste rapidement.

Le mécanisme de la réaction est le suivant :

Première phase. — *Oxydation du diphénol sous l'influence de l'oxygène et de la laccase.*

Cette oxydation se manifeste par la perte de l'hydrogène phénolique.

Deuxième phase. — *Mise en liberté d'acide iodhydrique par l'action d'un acide sur l'iodure de potassium.*

Troisième phase. — *Phénomène de réduction se traduisant par la reprise à l'acide iodhydrique par le phénol, de l'hydrogène perdu dans la première phase : d'où mise en liberté d'iode et coloration bleue de l'amidon.*

Cette démonstration constitue donc à la fois l'analyse et la synthèse du phénomène artificiellement reconstitué. Il est dès lors facile de se rendre compte qu'en supprimant l'un des facteurs qui entrent ici en jeu, la réaction ne se produit plus. Comme dans les sucs végétaux, ce sont les mêmes éléments qui concourent à la production du même phénomène, l'absence de l'un quelconque de ces éléments empêche également sa manifestation.

Dans ces expériences, on a reconstitué artificiellement un milieu convenable, mais une observation plus fine permet de distinguer la pyrocatéchine de l'hydroquinone. On vient de voir en effet qu'en présence de pyrocatéchine, l'acide acétique provoque la réaction ; en présence de l'hydroquinone, l'emploi des acides sulfurique, oxalique ou citrique s'impose pour l'observer.

Comme nous le verrons dans la suite, en étudiant les extraits végétaux, c'est à l'acide acétique que nous avons recours pour déceler la réaction précitée. Cette réaction commune aux extraits végétaux et à la pyrocatéchine, ainsi que d'autres réactions communes semblent identifier le diphénol contenu dans les sucs végétaux avec la pyrocatéchine.

L'identification complète entre la pyrocatéchine et le composé phénolique si répandu dans le règne végétal ne pourra se faire que si nous réussissons à retirer celui-ci des végétaux à l'état de pureté.

Il se pourrait fort bien encore que la pyrocatéchine fût, comme l'hydroquinone des feuilles de poirier, par exemple, contenue dans les plantes sous la forme d'un glucoside.

Des expériences en cours nous fixeront peut-être à cet égard.

DEUXIÈME PARTIE

SUR LA PRÉSENCE DANS UN GRAND NOMBRE DE VÉGÉTAUX D'UN DIPHÉNOL PRÉSENTANT DE GRANDES ANALOGIES AVEC LA PYROCATÉCHINE

par JULES WOLFF et NADIA ROUCHELMAN.

L'un de nous vient de démontrer comment, en présence de pyrocatéchine, de laccase et d'acide acétique, on peut provoquer à l'aide de l'iodure de potassium amidonné le phénomène du bleuissement. Nous avons rencontré dans un grand nombre de végétaux un composé phénolique qui se comporte comme la pyrocatéchine vis-à-vis des réactifs que nous venons de citer. Mais sa ressemblance avec ce diphénol ne se borne pas là. Il s'en rapproche encore par un grand nombre de propriétés communes telles que : formation d'un précipité vert bleu avec le perchlorure de fer dilué et qui passe au violet par addition d'une goutte d'ammoniaque ; coloration rouge par le réactif de Millon. En présence de tannin, le phénomène d'oxydation et de réduction ne se produit pas, etc.

Il est rare que l'on puisse observer dans les tissus ou les sucs végétaux, par l'emploi direct du réactif à l'iodure, la réaction bleue. On l'observe cependant quelquefois, comme avec les tissus sectionnés des pommes, des fonds d'artichauts, de salades, etc., et chaque fois que les conditions indiquées précédemment se trouvent réalisées. Cependant il est des cas où malgré cela le phénomène ne se produit pas. Cela tient : 1° à l'oxydation trop rapide et trop profonde pendant le broyage des substances oxydables des végétaux sous l'influence de leur propre laccase; 2° à la présence de traces de tannin, qui exerce une action inhibitrice sur la réaction (1).

(1) L'oxydation du tannin sous l'influence de la laccase empêche ou masque également la réaction du gaïacol. Il ne faut donc pas s'étonner si, dans un grand nombre de végétaux riches en laccase, contenant soit du tannin, soit de la pyrocatéchine, la réaction de gaïacol est masquée.

Pour éviter autant que possible les influences perturbatrices que nous venons de citer, nous avons imaginé le mode opératoire suivant, lequel, s'il n'est pas à l'abri de toutes les causes d'insuccès, permet du moins de réussir dans la majorité des cas.

Le principe de cette méthode consiste à empêcher l'oxydation du composé phénolique (chromogène) par la laccase, au moment du broyage des cellules végétales et de la mise en liberté dans le suc des substances actives. Pour arriver à ce but nous effectuons le broyage en présence d'une solution étendue d'acide sulfurique qui paralyse l'action de l'oxydase. Nous choisissons pour nos expériences des plantes jeunes quand cela est possible et nous opérons de préférence sur les feuilles.

Les plantes sont broyées avec leur poids d'acide sulfurique N/2 (25 *grammes p.* 1.000). *Lorsque la matière est réduite en bouillie, on filtre. Dans certains cas il faut filtrer à la trompe. Le filtrat est généralement peu coloré et transparent. Après avoir neutralisé l'acide sulfurique à l'aide de quelques cristaux de phosphate disodique* [*ou avec du carbonate de calcium lorsqu'on a constaté la présence de querci-tannin* (1)], *on divise le liquide en deux parties égales, de façon à opérer sur environ* 2 *cent. cubes de celui-ci pour chaque essai. La portion A sert de témoin. On verse dans la portion B* 2 *gouttes d'une macération glycérinée de* Russula delica *riche en laccase, ensuite chaque portion reçoit successivement* 0 *cent. cube* 25 *d'iodure de potassium amidonné à* 3 *p.* 100 *et* 3 *gouttes d'acide acétique normal* (60 *p.* 1.000). *Alors, suivant que le liquide est plus ou moins riche en substance oxydable, on observe une coloration bleue plus ou moins rapide dans la portion B contenant la laccase. Le témoin A, sans laccase, reste incolore. La coloration dans la portion B est dans certains cas instantanée et très intense.*

Dans un grand nombre de cas l'extraction du phénol peut se faire plus simplement en projetant dans l'eau bouillante les feuilles ou les portions de la plante sur lesquelles on veut expérimenter et poursuivant l'ébullition pendant 4 à 5 minutes.

Les tableaux ci-après contiennent la liste des plantes sur lesquelles nous avons opéré. Dans la troisième colonne nous indiquons les cas où la réaction a été instantanée, ceux où elle

(1) Dans ce cas il faut refiltrer.

ne s'est pas produite, où elle est restée douteuse, ou enfin le temps au bout duquel elle est nettement apparue.

FAMILLE	GENRE ET ESPÈCE	OBSERVATIONS
Araliées.	*Aralia chinensis*	5 minutes.
—	*Aralia spinosa*	5 minutes.
—	*Fatsia japonica*.	Instantan.
—	*Eleutherococcus senticosus*.	Instantan.
—	*Hedera helix* (feuilles jeunes). . . .	Instantan.
—	*Hedera helix* (feuilles adultes) . . .	12 minutes.
Aroïdées	*Acorus Calamus*.	4 minutes.
—	*Anthurium Orontium*	Instantan.
—	*Arum italicum*	8 minutes.
—	*Calla palustris*	2 minutes.
—	*Spathiphyllum atrovirens*.	2 minutes.
—	*Xanthosoma sagittifolium*.	2 minutes.
Asclépiadées	*Vincetoxicum officinale*.	6 minutes.
Berbéridées.	*Berberis vulgaris*	2 minutes.
—	*Epimedium alpinum*.	Néant.
—	*Mahonia aquifolium*.	1 minute.
—	*Nandina domestica*	Instantan.
Bignoniacées	*Dolichandrone tomentosa*	10 minutes.
Cactées	*Pereskia bresiliensis*.	Instantan.
Caprifoliacées. . . .	*Abelia rupestris*.	1 minute.
—	*Diervilla Lonicera*.	8 minutes.
—	*Leycesteria formosa*.	1 minute.
—	*Lonicera caprifolium*	2 minutes.
—	*Lonicera tatarica*	2 minutes.
—	*Lonicera etrusca*	1 minute.
—	*Lonicera brachipoda*	Instantan.
—	*Sambucus nigra*.	2 minutes.
—	*Symphoricarpus racemosus*	1 minute.
—	*Viburnum Opulus*.	1 minute.
—	*Viburnum Tinus*	8 minutes.
—	*Viburnum Lantana*	2 minutes.
Caryophyllées. . . .	*Dianthus barbatus*	2 minutes.
—	*Saponaria officinalis*	15 minutes.
Celastracées.	*Celastrus scandens*	7 minutes.
—	*Evonymus japonicus*	5 minutes.
Conifères	*Araucaria excelsa*	1 minute.
—	*Callitris quadrivalvis*	6 minutes.
—	*Cedrus Libani*	10 minutes.
—	*Cephalotaxus Fortuni*	5 minutes.
—	*Cupressus thurifera*.	6 minutes.
—	*Ginkgo biloba*.	5 minutes.
—	*Pinus excelsa*.	2 minutes.
—	*Pinus Laricio*.	8 minutes.
—	*Podocarpus macrophylla*	2 minutes.
—	*Thuia occidentalis*.	3 minutes.

FAMILLE	GENRE ET ESPÈCE	OBSERVATIONS
Convolvulacées . .	*Calystegia sepium*.	Instantan.
—	*Convolvulus Althæa*.	Instantan.
—	*Convolvulus arvensis*.	Instantan.
—	*Convolvulus sepium*.	Instantan.
—	*Cuscuta major*	Instantan.
—	*Ipomea Batatas*.	Instantan.
—	*Ipomea purpurea*	Instantan.
—	*Nolana prostrata*.	Instantan.
—	*Pharbitis hispida*	Instantan.
Cupulifères	*Æsculus hippocastanum*.	5 minutes.
—	*Fagus baccata*	1 min.-2 min.
—	*Quercus suber*.	Néant.
—	*Quercus tinctoria*	Néant.
Cyclanthacées. . . .	*Carludovica palmata*	2 minutes.
Dipsacées	*Dipsacus fullonum*	1 minute.
—	*Knautia magnifica*	Instantan.
—	*Scabiosa columbaria*.	Instantan.
Ericacées	*Arbutus Unedo*	Rougit.
—	*Azalea pontica*	Foncé.
—	*Ledum latifolium*.	Jaunit.
—	*Rhododendron album*	Néant.
—	*Rhododendron caucasicum*	Néant.
Euphorbiacées . . .	*Euphorbia officinalis*	2 minutes.
Filicinées	*Polypodium vulgare*.	1 minute.
—	*Pteris aquilina*	2 minutes.
Géraniacées.	*Geranium robertianum*	Néant.
—	*Impatiens parviflora*	4 min.-5 min.
—	*Tropæolum majus*.	5 minutes.
Gesneracées.	*Achimenes hybrida*	Instantan.
—	*Achimenes mexicana*	15 minutes.
—	*Æschynanthus Lobiana*	Néant.
—	*Episcia fulgida*	2 minutes.
—	*Episcia tessellata*	Instantan.
Graminées.	*Bromus mollis*.	Instantan.
—	*Lolium perenne*.	1 minute.
—	*Secala cereale* (plante jeune)	5 minutes.
—	*Secala cereale* (plante adulte) . . .	13 minutes.
—	*Triticum repens*.	2 min.-3 min.
—	*Triticum vulgare*	1 minute.
Hydrocharidées. . .	*Elodea canadensis*.	1 minute.
—	*Hydrocharis morsus ranæ*.	1 minute.
—	*Stratiotes aloïdes*.	1 minute.
Hydrophyllées . . .	*Phacelia tanacetifolia*.	Instantan.
— . . .	*Wigandia grandiflora*.	1 minute.
Juglandées	*Juglans nigra*.	Néant.
Labiées	*Ajuga reptans*	Instantan.

FAMILLE	GENRE ET ESPÈCE	OBSERVATIONS
Labiées	*Ballota Betonica*	Instantan.
—	*Betonica grandiflora*	Instantan.
—	*Brunella vulgaris*	Instantan.
—	*Calamintha officinalis*	3 min.-4 min.
—	*Hyssopus officinalis*	5 minutes.
—	*Lamium maculatum*	Instantan.
—	*Lavandula spicata*	Instantan.
—	*Leonurus cardiaca*	1 minute.
—	*Marrubium vulgare*	Instantan.
—	*Melissa officinalis*	1 minute.
—	*Mentha officinalis*	Instantan.
—	*Mentha rotundifolia*	1 minute.
—	*Origanum vulgare*	2 minutes.
—	*Perilomia montana*	Instantan.
—	*Plectranthus fruticosus*	Instantan.
—	*Salvia officinalis*	1 minute.
—	*Salvia pratensis*	4 minutes.
—	*Salvia sclarea*	1 minute.
—	*Scutellaria Columnæ*	5 minutes.
—	*Stachys recta*	1 minute.
—	*Stachys longifolia*	1 minute.
—	*Teucrium Chamædrys*	Instantan.
—	*Teucrium Scordium*	Instantan.
Lauracées	*Laurus nobilis*	1 minute.
—	*Prunus laurocerasus*	2 minutes.
Légumineuses	*Acacia latifolia*	Néant.
—	*Lupinus varius*	Néant.
—	*Phaseolus vulgaris*	7 minutes.
—	*Trifolium campestre*	1 minute.
—	*Vicia sativa*	Douteuse.
Liliacées	*Colchicum autumnale*	Néant.
—	*Hyacinthus orientalis*	3 minutes.
—	*Uvularia grandiflora*	1 minute.
Linacées	*Linum tenuifolium*	Instantan.
Loasées	*Blumenbachia insignis*	2 minutes.
—	*Loasa vulcanica*	Douteuse.
Malvacées	*Abutilon Avicennæ*	1 minute.
—	*Althæa officinalis*	1 minute.
—	*Althæa rosea*	4 minutes.
—	*Hibiscus roseus*	4 minutes.
—	*Hibiscus Manihot*	4 minutes.
—	*Lavatera arborea*	1 minute.
—	*Malva sylvestris*	Instantan.
—	*Napæa dioica*	4 minutes.
—	*Tilia ulmifolia*	2 minutes.
Meliacées	*Cedrela sinensis*	4 minutes.
Myrtacées	*Eucalyptus globularia*	Néant.
—	*Eugenia unifolia*	Néant.
—	*Myrtus lurida*	Néant.
Nymphéacées	*Nuphar luteum*	3 minutes.

FAMILLE	GENRE ET ESPÈCE	OBSERVATIONS
Oléacées	*Forsythia Fortuni*	1 minute.
—	*Ligustrum vulgare*	Instantan.
—	*Syringa vulgaris* (Feuilles jeunes)	Instantan.
—	*Syringa vulgaris* (Feuilles adultes)	5 minutes.
Orchidées	*Malaxis spinosa*	Néant.
—	*Orchis mascula*	Douteuse.
—	*Vanilla planifolia*	2 minutes.
Palmiers	*Caryota sobolifera*	Instantan.
—	*Chamædorea elatior*	5 minutes.
Papaveracées	*Papaver Rhœas*	1 minute.
Pipéracées	*Piper Betel*	Instantan.
—	*Piper longum*	8 minutes.
—	*Piper racemosum*	1 minute.
Pittosporées	*Pittosporum Ralphi*	2 minutes.
—	*Pittosporum tenuifolium*	Instantan.
Plantaginées	*Plantago psyllium*	Brunit.
Polygonacées	*Fagopyrum esculentum*	1 min.-2 min.
—	*Polygonum hydropiper*	Néant.
—	*Rheum officinale*	10 minutes.
—	*Rumex acetosa*	10 minutes.
Portulacées	*Claytonia perfoliata*	2 minutes.
—	*Portulaca oleracea*	1 minute.
Renonculacées	*Anemone nemorosa*	1 minute.
—	*Ranunculus acris*	Instantan.
—	*Pæonia montana*	Néant.
Rhamnées	*Paliurus aculeatus*	2 minutes.
—	*Pomaderris apetalia*	5 minutes.
—	*Rhamnus alaternus*	10 minutes.
—	*Rhamnus franguloides*	Néant.
—	*Zizyphus sativus*	10 minutes.
Rosacées	*Cratægus oxyacantha*	3 minutes.
—	*Fragaria vesca*	10 minutes.
—	*Prunus domesticus*	Instantan.
—	*Potentilla anserina*	Néant.
—	*Prunus cerasifera*	Instantan.
—	*Rosa canina*	3 minutes.
—	*Rosa gallica*	3 minutes.
—	*Sorbus aucuparia*	1 minute.
Rubiacées	*Asperula odorata*	Instantan.
Rutacées	*Citrus Limonum*	Néant.
—	*Coleonema album*	1 minute.
—	*Dictamnus fraxinella*	5 minutes.
—	*Ptelea trifoliata*	3 minutes.
—	*Ruta graveolens*	4 minutes.
—	*Zanthoxylum fraxinifolium*	5 minutes

FAMILLE	GENRE ET ESPÈCE	OBSERVATIONS
Salicinées.	*Populus nigra*.	3 minutes.
—	*Salix fragilis*.	4 minutes.
Sapindacées.	*Acer saccharinum*.	15 minutes.
Saxifragacées. . . .	*Deutzia crenata*.	2 minutes.
—	*Philadelphus latifolius*	1 minute.
—	*Saxifraga crassifolia*.	Néant.
—	*Saxifraga hypnoides*	Instantan.
Scitaminées	*Alpinia Zingiber*	15 minutes.
—	*Canna Annei*.	2 minutes.
—	*Curcuma longa*	3 minutes.
—	*Hedychium coronatum*	2 minutes.
—	*Marantha arundinacea*	1 minute.
—	*Zingiber officinalis*	1 minute.
Scrophularinées. . .	*Antirrhinum majus*.	8 minutes.
— . . .	*Digitalis purpurea*	12 minutes.
— . . .	*Gratiola officinalis*	5 minutes.
— . . .	*Linaria cymbalaria*	1 minute.
— . . .	*Mimulus luteus*	Instantan.
— . . .	*Paulownia imperialis*	Instantan.
— . . .	*Verbascum thapsus*	2 minutes.
— . . .	*Veronica officinalis*	4 minutes.
— . . .	*Veronica longifolia*	1 minute.
Simarubacées	*Ailanthus glandulosa*	3 minutes.
Sélaginées	*Myoporum vulgare*	3 minutes.
Solanées	*Capsicum annuum*	2 minutes.
—	*Hyoscyamus nigra*.	1 minute.
—	*Lycopersicum esculentum*	1 minute.
—	*Solanum esculentum*.	1 minute.
—	*Solanum dulcamara*.	Instantan.
—	*Solanum tuberosum*	Instantan.
—	*Datura stramonium*.	2 minutes.
Urticacées	*Ficus carica*	3 minutes.
—	*Ulmus campestris*.	5 minutes.
—	*Urtica dioica*	Instantan.
—	*Urtica urens*	3 minutes.
Verbénacées	*Callicarpa longa*	Instantan.
—	*Caryopteris Mastacanthus*.	Instantan.
—	*Clerodendron trichotomum*	15 minutes.
—	*Verbena officinalis*	1 minute.
—	*Vitex agnus-castus*	1 minute.
Vitées.	*Ampelopsis muralis*.	1 minute.
—	*Vitis vinifera* (raisin blanc).	4 minutes.
—	*Vitis vinifera* (raisin noir)	7 minutes.

Nos expériences appellent quelques observations :

1° La rapidité de la réaction peut être influencée par la

présence de substances qui exercent une action retardatrice [sucre, traces de tannin, etc., trop forte acidité (1)];

2° Le fait que le phénomène du bleuissement ne se produit pas en l'absence de laccase exclut ici toute possibilité d'intervention des nitrites ;

3° Les extraits végétaux mentionnés dans notre liste comme n'ayant pas donné de réaction réductrice avec l'acide acétique ne doivent pas être considérés comme exempts de phénols. Nous avons vu, en effet, au cours de ce travail que l'hydroquinone, en présence d'autres acides (sulfurique par exemple), peut donner également cette réaction. D'autre part, un examen plus approfondi nous a montré que certains sucs ne donnent la réaction qu'après élimination du tannin par la gélatine ;

4° Il était également intéressant d'examiner ce qui se passe si au suc végétal contenant le diphénol naturel, mais exempt d'oxydase, on ajoute de la peroxydase (2) en même temps que l'iodure de potassium amidonné et de l'acide dans les conditions que nous avons précisées. Eh bien, il ne se passe rien, la réaction n'a pas lieu. D'autre part, si, toutes choses égales d'ailleurs, on additionne le même suc végétal, soit de pyrocatéchine, soit d'hydroquinone, soit de gaïacol, le résultat est également négatif.

Conclusion : 1° *Le suc végétal ne renferme pas de peroxyde*;
2° *Pour obtenir un résultat positif, la présence d'une oxydase, la laccase, est nécessaire.*

Conclusion générale : *En présence des nombreuses discussions qui se sont élevées au sujet de l'existence des peroxydes et des nitrites dans les végétaux et de la nocivité éventuelle des peroxydes, nous avons cru utile de montrer que la réaction qui a donné lieu à tant de controverses est due dans la grande majorité des cas à la présence d'un composé phénolique* (3), (*probablement la pyrocatéchine*). *Celui-ci joue certainement, en*

(1) Comme par exemple, dans les feuilles d'oseille.
(2) D'après Bach et Chodat, l'action combinée de la peroxydase et du peroxyde présumé des végétaux produirait le même effet que la laccase.
(3) Nous nous réservons d'examiner si ce composé existe à l'état libre ou sous la forme d'un glucoside facilement décomposable.

même temps que la laccase de Gabriel Bertrand, *un rôle important dans les phénomènes d'oxydation et de réduction qui ont pour siège les végétaux.*

N. B. — En décrivant plus haut notre mode opératoire, nous avons insisté sur la nécessité de neutraliser les extraits sulfuriques des végétaux renfermant du tannin par le carbonate de calcium. Nous donnons plus bas quelques exemples où l'on n'observe qu'un brunissement lorsqu'on neutralise les extraits par le phosphate disodique, tandis que la neutralisation par le carbonate de calcium permet d'obtenir la réaction bleue caractéristique (1).

GENRES ET ESPÈCES	NEUTRALISATION par PO^4Na^2H	NEUTRALISATION par CO^3Ca
Achimenes (indéterminé) . .	Brunit.	Bleuit instantanément.
Blumenbachia insignis. . . .	Brunit.	Bleuit après 2 minutes.
Chamædorea elatior.	Brunit.	Bleuit après 5 minutes.
Elodea canadensis.	Brunit.	Bleuit après 1 minute.
Pomaderris apetala.	Brunit.	Bleuit instantanément.
Lavandula apicata	Brunit.	Bleuit instantanément
Vanilla planifolia.	Brunit.	Bleuit après 2 minutes.
Viburnum Lantana	Brunit.	Bleuit après 2 minutes.

Chez d'autres espèces végétales, nous avons observé des différences dans les vitesses de réaction selon que la neutralisation a été effectuée à l'aide du phosphate disodique ou du carbonate de calcium.

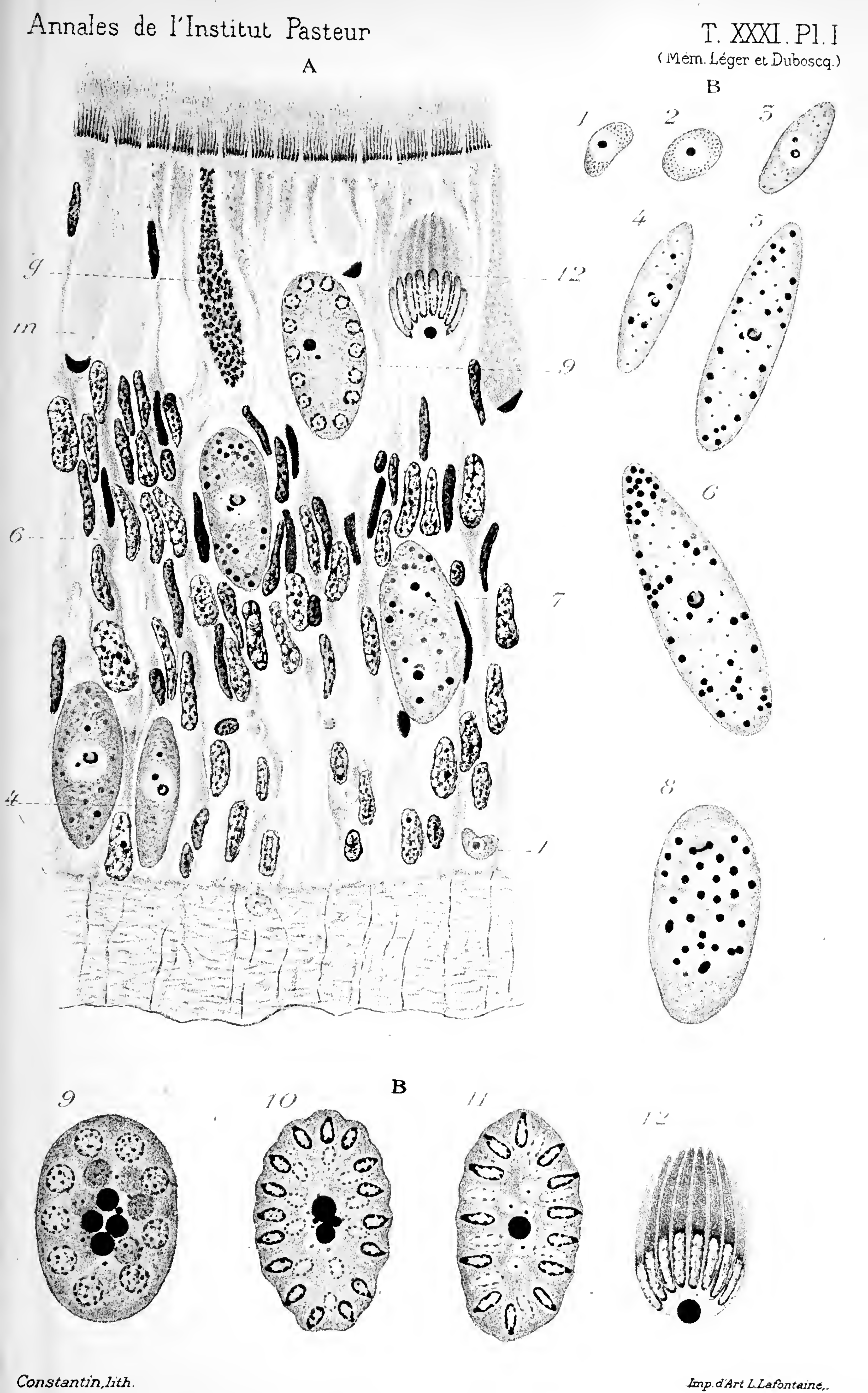
GENRES ET ESPÈCES	NEUTRALISATION par PO^4Na^2H	NEUTRALISATION par CO^3Ca
Caryota (indéterminé) . . .	3 minutes.	Instantan.
Curcuma longa	8 minutes.	3 minutes.
Linaria cymbalaria	9 minutes.	1 minute.
Podocarpus (indéterminé) .	2 min. 30 sec.	1 minute.
Piper racemosum	11 minutes.	1 minute.
Scrophularia (indéterminé) .	5 minutes.	1 minute.

(1) Quand la proportion de querci-tannin dépasse certaines limites, on n'observe plus la réaction même si la neutralisation a lieu à l'aide du carbonate de calcium.

En terminant, nous tenons à remercier ici M. le professeur J. Costantin, pour la grande amabilité avec laquelle il a bien voulu mettre à notre disposition la flore de son jardin botanique du Muséum. Nous adressons également nos remerciements à Mlle A. Marmier pour son concours.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

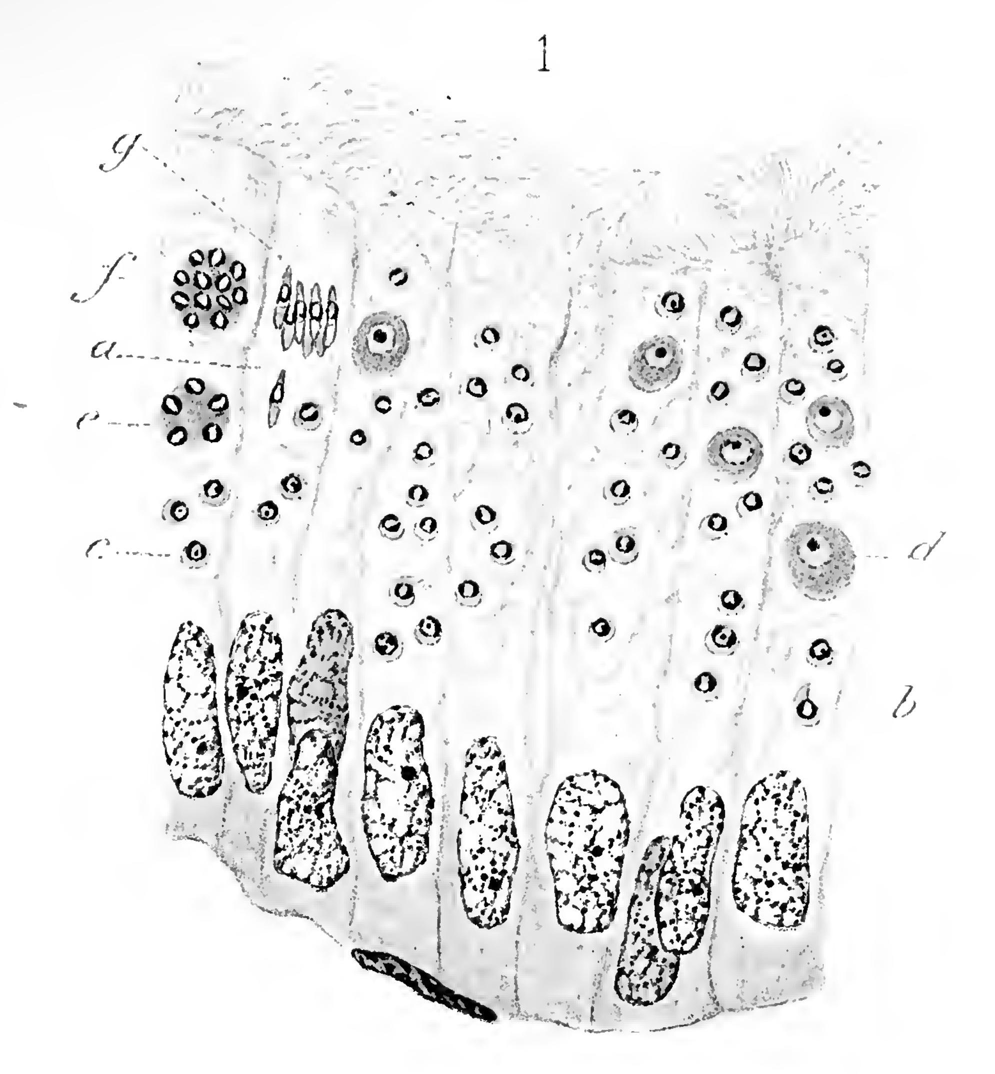


Constantin, lith.

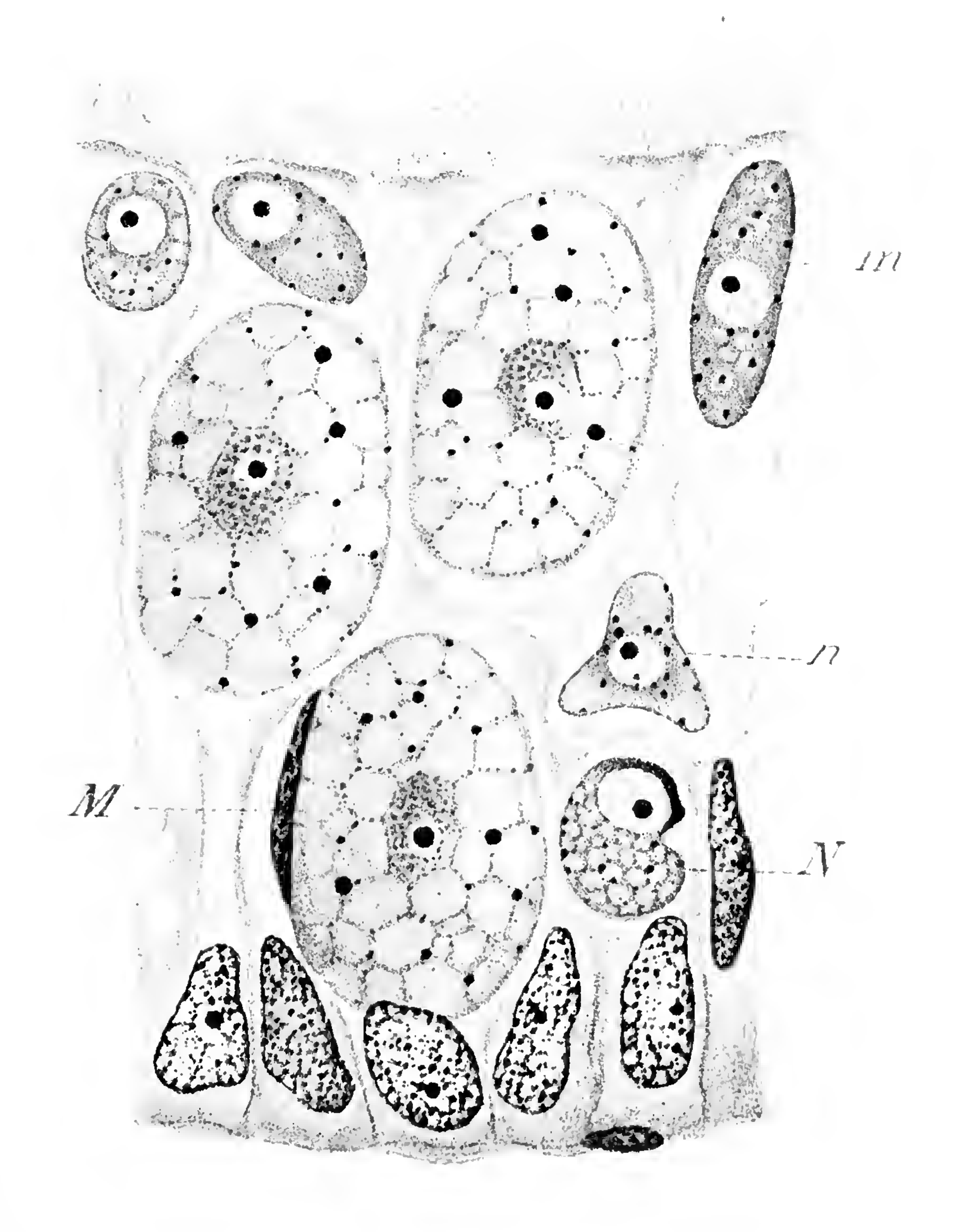
Imp. d'Art L. Lafontaine.

EIMERIA EPIDERMICA

1



2



Constantin, lith. Imp. d'Art L. Lafontaine

EIMERIA BEAUCHAMPI

1

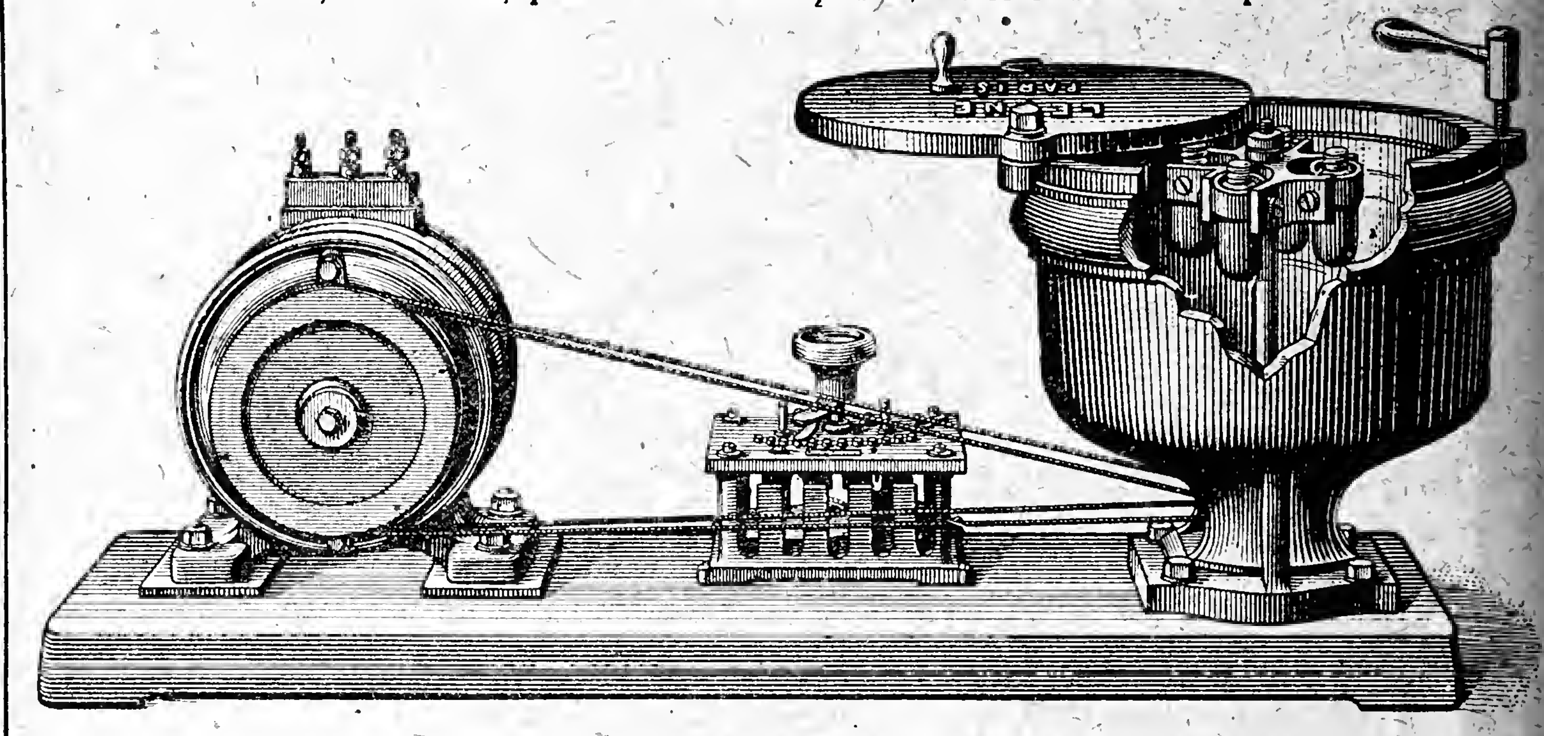


2



Constantin, lith. Imp. d'Art L. Lafontaine.

SELENIDIUM METCHNIKOVI



Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXXI. — 1917. Mars. — N° 3.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX



PARIS

MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : **18** francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : **20** francs.

SOMMAIRE DU N° 3

BULLETIN

DE LA

Société de Pathologie exotique

Siège de la Société : Institut Pasteur, Paris

Paraît 10 fois par an, 15 jours après chaque séance qui a lieu le 2e mercredi du mois, sauf en août et septembre.

Le volume de 1915, qui atteint 800 pages, avec figures dans le texte et planches hors texte, ne le cède en rien, malgré les circonstances, à ceux des années précédentes.

Prix de l'Abonnement :

France : 18 fr. — Union postale : 20 fr.

31e ANNÉE MARS 1917 N° 3

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

SUR LA DIVISION NUCLÉAIRE DES LEVURES

par A. GUILLIERMOND.

(Avec la planche IV.)

La structure intime des levures a été pendant longtemps très obscure : la petitesse des cellules, l'abondance de grains de sécrétion de natures variées, fixant les colorants nucléaires, compliquaient la question et rendaient difficile la différenciation du noyau; aussi s'explique-t-on que beaucoup d'auteurs aient pu admettre que les levures possédaient une structure spéciale, différente de celle des autres Champignons et caractérisée par l'existence d'un noyau rudimentaire, mal délimité du cytoplasme ou même d'un noyau diffus. Nos recherches d'il y a une dizaine d'années (1) ont définitivement résolu la question en mettant en évidence, d'une manière incontestable, un noyau typique analogue à celui des autres Champignons et en différenciant cet organe des grains de sécrétion de la cellule.

Cependant une question est restée jusqu'ici mal connue :

(1) Recherches cytologiques sur les Levures. *Thèse de doctorat ès sciences de Paris*, 1901, et *Revue générale de Botanique*, 1902.

c'est celle de la division nucléaire. Nous avons montré dans nos recherches que cette division s'accomplit toujours, pendant le bourgeonnement, par une amitose (1) caractérisée par un allongement du noyau qui prend l'aspect d'un haltère, dont les deux têtes ne tardent pas à se séparer par résorption de la partie effilée qui les unit. Au contraire, il nous a été impossible d'observer avec précision les divisions nucléaires qui s'effectuent dans l'asque avant la sporulation. Le cytoplasme renferme à ce stade une si grande abondance de produits de sécrétion qui masquent souvent le noyau, qu'il devient très difficile d'observer les phénomènes nucléaires. Les divisions ne se manifestent que par l'existence de petits noyaux disposés par paires et très rapprochés les uns des autres qui marquent les stades de la fin du phénomène. Cependant, étant donné qu'en aucune circonstance, on n'observe de noyaux en forme d'haltères comme dans le bourgeonnement et en nous appuyant sur certains aspects pris par le noyau au début de la division, nous avons cru pouvoir émettre l'opinion que ces divisions s'effectueraient par des mitoses analogues à celles des Ascomycètes; ces mitoses se passeraient presque tout entières dans l'intérieur de la membrane nucléaire, qui ne se résorberait qu'à la fin de l'anaphase, ce qui expliquerait l'impossibilité d'observer des stades de ce phénomène.

Depuis nos premières recherches, la division nucléaire des levures a été l'objet d'un certain nombre de travaux. Swellengrebel (2) et Fuhrmann (3), chacun de leur côté, ont décrit dans les divisions nucléaires du bourgeonnement des stades de mitoses et ont cru pouvoir même compter le nombre des chromosomes qui, dans les espèces étudiées (*S. cerevisiæ* et *ellipsoideus*), serait de 4. Mais les figures, représentées par ces deux auteurs, sont loin d'être démonstratives et, en reprenant les observations de Swellengrebel et Führmann, nous avons

(1) Toutefois nous avons décrit dans la germination des ascospores de *Willia Saturnus* des stades de divisions nucléaires qui paraissaient se rapporter à des mitoses, mais ces figures n'étaient pas absolument démonstratives (Recherches cytologiques sur la germination des spores et sur la conjugaison des levures, *Revue générale de Botanique*, 1905).

(2) Swellengrebel, Sur la division nucléaire de la levure pressée, les *Annales*, t. XIX, p. 503, 1905.

(3) Franz Fuhrmann, *Centralbl. für Bakter.*, *II*, 1906.

pu démontrer (1) que les prétendues figures de mitose décrites par ces auteurs résultaient d'interprétations erronées et d'apparences déterminées par la vacuole et les grains de sécrétion contenus dans cette dernière ou dans le cytoplasme. D'autre part les observations de Kohl (2), Wager et Peniston (3), Pénau (4) ont confirmé nos résultats de telle sorte qu'il semble actuellement démontré que la division nucléaire s'effectue, pendant le bourgeonnement, par amitose.

Pour ce qui concerne les divisions nucléaires de la sporulation, nous ne possédons encore aucune donnée précise. Wager et Peniston décrivent des phénomènes de mitose rudimentaire qui tiennent aussi, comme nous l'avons démontré, à une erreur d'interprétation. Au contraire, pour Kohl, ces divisions s'effectuent par une amitose analogue à celle du bourgeonnement, mais les figures que décrit cet auteur résultent, à notre avis, de préparations fixées d'une manière défectueuse.

Il existe cependant une levure qui laisse observer beaucoup plus facilement les phénomènes de sporulation, c'est le *Schizosaccharomyces octosporus*. Cette levure ne renferme en effet, dans ses asques, que très peu de produits de sécrétion, ce qui permet de mettre plus facilement en évidence le noyau et de suivre avec plus de précision ses divisions pendant la sporulation. C'est donc à cette levure que nous nous sommes adressé pour essayer de résoudre cette question délicate. Pour cela, nous avons employé la méthode que nous avions indiquée antérieurement comme la méthode de choix pour l'étude cytologique de cette levure. Cette méthode consiste à fixer un fragment de carotte contenant une culture commençant à sporuler et à le fixer tout entier, pendant 12 heures, dans le liquide picroformolé de Bouin. On évite ainsi la contraction des cellules qui se produit toujours par la méthode des frottis. La fixation effectuée, et après lavage du fragment, on dispose la levure en frottis sur des lames que l'on colore par l'hématoxyline ferrique.

(1) GUILLIERMOND, Remarques critiques sur différentes publications parues récemment sur la cytologie des levures, *Centralbl. für Bakter.*, *II*, t. XXVI p. 577, 1910.
(2) KOHL, *Die Hefepilze*. Leipzig, 1908.
(3) WAGER et PENISTON, *Annals of Botany*, 1909.
(4) PÉNAU, *Revue générale de Botanique*, 1913.

L'examen minutieux de préparations très soigneusement différenciées, à un très fort grossissement, nous a permis de suivre avec beaucoup de précision tous les stades des divisions nucléaires, qui s'effectuent, comme nous l'avions prévu, par des mitoses analogues à celles qu'on observe dans l'asque des Ascomycètes supérieurs.

On sait, d'après nos recherches, que les asques du *Schizosaccharomyces octosporus* résultent de la copulation de deux cellules identiques. Cette fusion s'effectue entre deux cellules réunies au moyen de petits becs émis par chacune d'elles; ces becs se soudent en un canal de copulation, la paroi qui sépare les deux gamètes au milieu de ce canal se résorbe, et les deux cellules se fusionnent cytoplasme à cytoplasme, noyau à noyau. Cette fusion opérée, l'œuf grossit et se transforme en asque. En général, la fusion est complète et l'asque qui en résulte prend la forme d'une grosse cellule ovale. Assez souvent cependant, l'asque conserve des traces de l'individualité des deux gamètes qui l'ont formé, accusées par un léger rétrécissement médian. Enfin, il arrive parfois que, la fusion étant incomplète, l'asque conserve la forme d'un haltère. Les ascospores sont tantôt au nombre de 4, tantôt au nombre de 8.

C'est donc dans d'assez grosses cellules présentant une forme ovale ou ayant l'aspect de haltères qui résultent de la copulation que nous venons de décrire, que se produisent les divisions nucléaires successives nécessaires à la sporulation. Ces divisions sont tantôt au nombre de 2, tantôt au nombre de 3, selon que l'asque doit renfermer 4 ou 8 ascospores.

Après la fusion nucléaire et lorsque l'œuf a acquis son volume définitif, le noyau se présente comme une grosse vésicule située vers le milieu de la cellule. Sa structure est très nettement distincte : un nucléoplasme incolore limité par une membrane colorée, à l'intérieur duquel on aperçoit un gros nucléole et deux ou trois grains de chromatine. Selon le degré de différenciation, les grains de chromatine apparaissent isolés au milieu du nucléoplasme ou bien insérés sur un reticulum moins coloré (Pl. IV, fig. 1 à 4).

C'est à ce moment que commence la première division. Elle s'effectue presque toujours dans le sens du grand axe de la

cellule et se manifeste par la présence, dans l'intérieur du noyau dont la membrane ne semble pas se résorber, d'un fuseau achromatique offrant en son milieu une agglomération de grains très petits et plus ou moins distincts qui représentent les chromosomes assemblés en plaque équatoriale. Lorsque la cellule n'a pas été trop différenciée, on aperçoit à chacun des pôles du fuseau un petit grain très colorable qui correspond certainement au centrosome (fig. 5 et 6).

A ce stade, qui est celui de la plaque équatoriale, succèdent d'autres figures nucléaires qui correspondent à l'anaphase. Ces figures sont caractérisées par un allongement du fuseau, qui arrive à dépasser sensiblement la longueur du noyau, encore représenté à ce stade par un nucléoplasme incolore qui apparaît toujours vers le milieu du fuseau avec le nucléole. A ce stade, la membrane nucléaire semble s'être résorbée. Les chromosomes, jusqu'alors assemblés en plaque équatoriale, apparaissent maintenant disséminés sur toute la longueur du fuseau (fig. 7 à 10) ou déjà répartis entre les deux pôles (fig. 11).

Le noyau entre ensuite en télophase : le nucléoplasme disparaît complètement et le fuseau, devenu extrêmement mince et très allongé, traverse la cellule de part en part suivant sa longueur. Les deux pôles du fuseau sont occupés par une petite masse sphérique d'aspect granuleux, résultant de l'agglomération des chromosomes répartis entre les deux pôles pendant l'anaphase. Le nucléole persiste encore sur un côté du fuseau (fig. 12 à 14). Bientôt le fuseau devient moins distinct, se résorbe dans sa partie médiane (fig. 15), puis cesse d'être visible (fig. 16) et les deux noyaux-fils se constituent aux dépens des deux masses granuleuses qui occupaient les deux pôles du fuseau (fig. 17). Par suite de l'allongement du fuseau achromatique, ces deux noyaux sont donc situés aux deux extrémités de la cellule. Le nucléole du noyau-père persiste quelque temps dans le cytoplasme vers le milieu de la cellule, puis disparaît à son tour (fig. 18-19).

Les secondes divisions s'accomplissent en général simultanément par un processus tout à fait analogue, soit dans le sens de la largeur de la cellule, soit dans le sens de sa longueur (fig. 20 et 26). Les deux paires de noyaux-fils qui en résultent

se trouvent disséminés dans des régions variables de la cellule : le nucléole des noyaux-pères dont ils résultent persiste pendant quelque temps dans l'espace cytoplasmique qui les sépare (27 à 29).

Les troisièmes divisions, quand elles ont lieu, s'accomplissent aussi simultanément et ne diffèrent pas non plus des précédentes : elles s'opèrent le plus souvent dans le sens du grand axe de la cellule (fig. 32 et 33).

Il arrive parfois que les deux premières divisions s'effectuent dans une direction un peu différente de celle que nous avons indiquée. La première peut produire un fuseau achromatique restant court et donner deux noyaux-fils assez rapprochés l'un de l'autre (fig. 19) qui, à la seconde mitose, se divisent simultanément et côte à côte suivant le grand axe de la cellule (fig. 25).

Nous n'avons pas cherché, bien entendu, à compter le nombre des chromosomes; les figures de division sont tellement petites qu'il serait téméraire d'entreprendre une pareille numération.

On voit donc que les divisions nucléaires de l'asque s'effectuent dans le *Schizosaccharomyces octosporus* par des processus tout à fait analogues à ceux qui ont été décrits dans l'asque des Ascomycètes supérieurs, notamment à ceux que nous avons figurés dans *Pustularia vesiculosa*.

Ces mitoses, qui s'accomplissent pendant toute la durée de la prophase et une partie de l'anaphase, à l'intérieur de la membrane nucléaire, sont très difficiles à mettre en évidence, par suite de la petitesse du noyau. Il est parfois très délicat, par exemple, si la préparation n'est pas très bien différenciée, de distinguer un noyau au stade de la plaque équatoriale d'un noyau au repos et l'on s'explique que jusqu'ici il ait été impossible d'observer ces mitoses. Il est infiniment probable que les divisions nucléaires s'accomplissent de la même manière dans les asques des autres levures, mais l'abondance extrême des produits de sécrétion, colorables comme le noyau et qui s'accumulent à ce stade dans les asques, laisse peu d'espoir qu'on puisse arriver à le mettre en évidence.

Nos observations démontrent donc que les divisions nucléaires de l'asque s'effectuent dans le *Schizosaccharomyces octosporus*

par une mitose. C'est la première fois qu'on décrit, d'une manière précise, l'existence d'une mitose chez les levures. L'existence de cette mitose nous a paru mériter d'être signalée ici. Elle confirme les relations que nous avons souvent établies dans nos recherches antérieures entre les phénomènes cytologiques qui s'accomplissent dans l'asque des levures et ceux qui ont été décrits dans celui des Ascomycètes supérieurs. Enfin, elle apporte un argument décisif contre l'opinion soutenue encore en 1910 par Wager et Peniston (1), opinion qui consiste à admettre que le noyau que nous avons décrit dans les levures n'est pas un véritable noyau, mais le nucléole d'un noyau très primitif, constitué par des grains de chromatine disséminés dans le cytoplasme et dans la vacuole.

15 juillet 1914.

LÉGENDE DE LA PLANCHE IV

MITOSES DANS L'ASQUE DE *Schizosaccharomyces octosporus*.

(Toutes les figures ont été dessinées à la chambre claire avec l'objectif apochromatique à immersion homogène 1,5 mm. et l'oculaire compensateur 7 de Zeiss).

Figures 1 à 4. — Noyau au repos, après la copulation.
Figures 5 à 6. — Première mitose : plaque équatoriale.
Figures 7 à 10. — *Id.* : Début de l'anaphase.
Figure 11. — *Id.* : Fin de l'anaphase.
Figures 12 à 16. — *Id.* : Télophases.
Figures 17 à 19. — Les deux noyaux-fils sont constitués.
Figures 20 et 21. — Secondes mitoses : Plaques équatoriales.
Figures 22. — *Id.* : Anaphases.
Figures 23 à 26. — *Id.* : Télophases.
Figures 27 à 31. — Les quatre noyaux-fils sont constitués.
Figure 32. — Troisièmes mitoses : Plaques équatoriales.
Figure 33. — *Id.* : Télophases.

(1) WAGER et PENISTON, *loc. cit.*

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

LES PROPRIÉTÉS PHYSICOCHIMIQUES DES PRODUITS DU GROUPE DES ARSÉNOBENZÈNES LEURS TRANSFORMATIONS DANS L'ORGANISME

(PREMIER MÉMOIRE)

par J. DANYSZ.

Le dioxydiaminoarsénobenzène est un composé insoluble dans l'eau, et comme tel, d'une utilisation difficile sinon impossible en médecine, ainsi que l'ont montré les premiers essais d'Ehrlich, qui en conseillait l'emploi en injections intramusculaires sous forme de dissolution dans l'alcool méthylique ou en émulsion huileuse.

Il est soluble sous forme de dichlorhydrate en milieu légèrement acide ou sous forme de composé disodique légèrement alcalin.

Sous l'une ou l'autre de ces formes, l'arsénobenzène est un composé éminemment instable, parce que, grâce à son arsenic trivalent, ses amines et ses oxhydriles, ses affinités chimiques ne sont pas complètement satisfaites, et aussi parce que, grâce à sa constitution physique, la structure de sa molécule, il peut fixer par adsorption des quantités plus ou moins grandes de toutes sortes de substances avec lesquelles il vient en contact.

Il peut former des composés chimiquement définis avec les sels de tous les métaux, avec les composés bismuthiques et séléniés, et tous ces composés peuvent former des complexes à structure chimique encore mal définie avec le phosphore et l'antimoine. Ces complexes peuvent encore être combinés avec toute la série des cétones, des amines aromatiques, des couleurs d'aniline, etc...

On peut affirmer que la faculté du dioxydiaminoarsénobenzène de former des combinaisons nouvelles ou de fixer les substances avec lesquelles il est en contact peut aller à l'infini, et dans la plupart des cas, les éléments ou les composés ainsi englobés s'y trouvent à l'état dissimulé. Ce corps peut donc

servir, dans beaucoup de cas, de véhicule très commode pour un grand nombre de produits actifs.

Cette sensibilité extrême à toutes sortes de réactifs, la faculté que possèdent ces produits de former avec un grand nombre de sels des composés plus ou moins stables et plus ou moins solubles, qui compliquent tellement leur étude chimique et leur préparation, peuvent nous expliquer aussi le mécanisme de l'action de ces produits sur l'organisme traité et sur les parasites.

Il est évident, en effet, que les affinités des produits du groupe de l'arsénobenzène que nous constatons *in vitro*, s'exerceront d'une façon analogue sinon identique sur les gaz, les sels et autres substances contenues dans le sang et dans les cellules à l'état libre ou à l'état combiné, et que leur action thérapeutique ou toxique, s'exerçant directement ou par une voie détournée, ne peut être que le résultat de ces combinaisons.

L'expérience nous montre aussi qu'à de rares exceptions près, les résultats de certaines de ces combinaisons sont beaucoup plus pathogènes pour certains parasites à organisation plus élevée : spirilles, tréponèmes, trypanosomes, que pour les microbes proprement dits et pour les tissus de l'organisme infecté, ce qui peut être expliqué par le fait que le corps de ces parasites est plus riche en substances qui attirent et fixent ces médicaments, et forment avec elles des composés plus stables, ou bien que ces substances neutralisées par le médicament sont plus nécessaires à la vie de ces parasites qu'à celle des cellules de l'organisme.

Il n'est pas nécessaire, en effet, qu'un produit soit plus parasitotrope qu'organotrope, suivant l'expression d'Ehrlich, pour exercer une action stérilisante sur les parasites d'un organisme infecté, parce que nous savons que la même combinaison peut être indifférente, nutritive ou excitante pour certaines cellules et toxique pour d'autres, suivant la quantité et le rôle que la substance fixée joue dans la vie de ces différentes cellules. Les sérums bactéricides, certains antiseptiques très dilués, détruisent certains microbes et sont indifférents pour les tissus et en stimulent la croissance.

Il est très possible aussi que la disparition des tréponèmes

ou des trypanosomes, après l'injection d'un arsénobenzène, ne résulte pas du tout de l'action directe de ce produit sur le parasite et que la mort de ce dernier ne soit pas le résultat d'une combinaison dans le corps du parasite, entre le produit injecté et une substance indispensable à sa vie. Les expériences de Hafkine (1) sur l'action du changemeut de milieu sur les infusoires et les microbes, ainsi que les travaux de Loeb (2) sur la toxicité des sels (NaCl pur), donnent à penser qu'un produit qui provoquerait un changement d'équilibre appréciable dans la constitution physico-chimique du sang, pourrait parfaitement causer la mort du parasite par simple hétérotonie entre ce dernier et son milieu.

Nous verrons plus loin que les produits du groupe de l'arsénobenzène se trouvent précisément dans ce cas.

L'étude de ces combinaisons, de leur importance pour la vie des cellules, peut seule nous amener à trouver la clef du mécanisme de l'action thérapeutique et toxique d'un certain nombre de ces produits dont l'activité curative a été constatée par l'expérience, et, s'il nous est impossible aujourd'hui de résoudre ce problème d'une façon complètement satisfaisante, nous chercherons dans les chapitres suivants à en poser quelques éléments.

Réactions *in vitro* avec les gaz et les sels contenus dans le sang.

Les quatre produits à base d'arsénobenzène employés actuellement en thérapeutique, le dioxydiaminoarsénobenzène (arsénobenzène de Billon), le dioxydiaminoarsénobenzène stibiobromo-argentique (luargol), le tétraoxydiphosphaminodiarsénobenzène (galyl) et le composé de formaldéhyde sulfoxylate de sodium et d'arsénobenzène (novoarsénobenzène) ne réagissent pas de la même façon avec les gaz et les sels contenus dans le sang, chacun de ces produits doit donc faire l'objet d'une étude spéciale.

L'*acide carbonique* et le *bicarbonate de soude* transforment les composés disodiques d'arsénobenzène et de luargol en

(1) Hafkine, Ces *Annales*, t. IV, p. 148, 1891.
(2) J. Loeb, Toxicité du NaCl pur. *The American Journal of Physiology*, t. III.

bases insolubles, ils n'exercent aucune action immédiate appréciable sur le galyl et le novoarsénobenzène.

Sous l'action de l'*oxygène*, tous ces produits s'oxydent plus ou moins rapidement et cette oxydation est favorisée par la présence de chlorure de sodium.

Tous ces produits précipitent de leurs solutions alcalines ou neutres par le biphosphate de chaux, en formant avec ce sel des composés insolubles dans l'eau. Ces combinaisons se font très rapidement pour l'arsénobenzène et le luargol, plus lentement pour le galyl et encore plus lentement pour le novoarsénobenzène. Il faut aussi relativement plus de biphosphate de soude pour précipiter le novoarsénobenzène que pour précipiter les trois autres produits.

Les composés de biphosphate de chaux avec l'arsénobenzène et le luargol sont facilement solubles dans une solution de soude caustique; le même composé avec le galyl est moins soluble, avec le novoarsénobenzène encore moins. Dans ces deux derniers cas, la dissolution n'est pas parfaite, ces solutions restent toujours un peu troubles, même avec un assez grand excès de soude.

La stabilité moléculaire de ces produits est très différente pour chacun d'eux. Ainsi, conservé dans des ampoules exactement remplies et scellées à vide :

Le *galyl* se trouble et donne un précipité abondant en moins de deux heures;

L'*arsénobenzène* se transforme en 15 jours en un produit rouge très toxique;

Le *novoarsénobenzène* reste inaltéré pendant 20 jours;

Le *luargol* reste limpide le plus longtemps. La préparation exactement disodique en solution dans l'eau distillée a pu être conservée pendant plusieurs mois, sans avoir subi aucune modification appréciable, tant au point de vue de son aspect qu'à celui de son action toxique ou thérapeutique.

Les propriétés de solubilisation ne sont pas non plus les mêmes.

Le *luargol* disodique, en solution étendue dans l'eau salée (NaCl) à 8 pour mille, abandonné dans un tube ouvert, se dépose lentement (en 48 heures) sans se troubler. La couche colorée finit par former un culot transparent au fond du tube.

tandis que l'arsénobenzène et le galyl forment des précipités opaques.

L'arsénobenzène, le luargol et le galyl peuvent être précipités de leurs solutions par les sels, et notamment par le chlorure de sodium. Le novoarsénobenzène reste en solution limpide même dans une solution saturée de sel marin.

De toutes ces propriétés physico-chimiques, nous devons déduire que l'*arsénobenzène*, le *luargol* et le *galyl* possèdent les propriétés caractéristiques des colloïdes, et de ces trois produits le *luargol* est le plus colloïdal, le *galyl* le moins; le *novoarsénobenzène* aurait plutôt les propriétés d'un sel.

Il était important d'établir ces distinctions, parce qu'elles nous permettent de mieux connaître les transformations que chacun de ces produits subira dans le sang et l'influence que ces transformations peuvent avoir dans leur action sur l'organisme malade et sur les parasites.

Peu de temps après l'injection dans la veine d'une solution disodique d'arsénobenzène ou de luargol, ces produits commencent à abandonner la soude qui se combine avec l'acide carbonique libre et combiné sous forme de bicarbonate de soude et se transforment peu à peu en bases insolubles. En même temps, une partie de ces produits, celle qui reste encore en solution à l'état monosodique ou disodique, se combine avec le biphosphate de chaux et donne aussi un composé insoluble. La présence dans le sang de l'oxygène libre et du chlorure de sodium hâte ces transformations, le milieu albumineux tend à les ralentir, et les bases organiques contenues dans le plasma forment de nouveau, avec ces produits, des composés solubles.

Il faut noter pourtant un point très important pour l'action parasiticide de ces deux produits, à savoir que ces transformations sont beaucoup plus lentes pour le *luargol* que pour l'*arsénobenzène*; ce dernier forme, en quelques heures, des composés entièrement et définitivement solubles, probablement comparables au novoarsénobenzène, et passe assez rapidement dans l'urine, de sorte qu'on n'en trouve plus après 48 heures, tandis que l'on trouve dans l'urine des quantités appréciables de luargol (recherche de l'arsenic) encore 14 ou 24 jours (1) après

(1) Dosages faits par Mlle Michel par la méthode de Bongrand.

l'injection d'une forte dose à des lapins. On observe le même phénomène *in vitro*. Il faut, par exemple, quelques minutes pour combiner la base de l'arsénobenzène avec le formaldéhyde sulfoxylate de sodium, et quelques heures pour obtenir une combinaisan analogue avec le luargol, et même, dans ce dernier cas, la dissolution n'est jamais complète.

Le *novoarsénobenzène* qui, ainsi que nous l'avons vu plus haut, n'est pas influencé par l'acide carbonique, le bicarbonate de soude, le chlorure de sodium, et qui ne forme des composés insolubles avec le biphosphate de chaux que très lentement et en présence de quantités assez notables de ce sel, ne précipitera dans le courant sanguin que dans des conditions exceptionnelles, quand la quantité des phosphates contenus dans le sang sera supérieure à la normale, tandis que dans les cas normaux il sera éliminé dans les urines avant d'avoir eu le temps de devenir insoluble.

Nous n'avons pas étudié les transformations du galyl dans l'organisme. A en juger par les symptômes observés à la suite des injections de ce produit, il se comporterait dans le sang comme une solution d'arsénobenzène intermédiaire entre le composé monosodique et disodique.

L'étude de la formule sanguine montre que les leucocytes jouent anssi dans ces réactions un rôle important. Yakimoff (1) a constaté pour l'arsénobenzène, Hudelo et Montlaur (2) pour le luargol, qu'après un fléchissement de peu de durée aussitôt après l'injection, le nombre de leucocytes augmente considérablement et que cette augmentation se maintient pendant plusieurs jours. Il est très probable que les leucocytes qui ont englobé les granules du précipité les transportent dans les organes hémopoïétiques et que c'est là principalement que s'opère la transformation des composés insolubles en composés solubles.

Il est assez difficile de se rendre compte des transformations que ces produits subissent dans le sang, quand on injecte aux animaux ou à l'homme le *luargol* ou l'*arsénobenzène* en solu-

(1) W. L. Yakimoff, De l'influence de l'arsénobenzènol « 606 » sur la formule leucocytaire du sang. Ces *Annales*, 1911, t. XXV, p. 415.

(2) Hudelo et Montlaur, Le 102. Étude clinique et expérimentale, etc., *Bulletins et Mémoires de la Soc. méd. des Hôpitaux*, séance du 21 juillet 1916, p. 1186.

tion exactement disodiques ou un peu hyperalcalines, ou le *novoarsénobenzène* parfaitement bien préparé, parce qu'alors les troubles produits par les injections dans la circulation du sang sont très légers, et les accidents graves tellement rares qu'ils échappent à l'expérimentation.

La formation des précipités est, en effet, dans ces conditions, très lente. Elle demande quelques heures pour le luargol et l'arsénobenzène, de sorte que les quelques centigrammes ou décigrammes du produit injecté, qui ne peut pas être éliminé sous cette forme par les reins parce qu'il précipite dans l'urine, ont eu le temps d'être dilués dans le volume total du sang et forment alors un précipité tellement fin qu'il ne peut pas en résulter une gêne sensible dans les capillaires.

La leucocytose entre alors, elle aussi, en jeu; la grande majorité des granules, sinon tous, sont englobés par les polynucléaires à mesure qu'ils se forment.

Pour bien étudier ces phénomènes, il était nécessaire de faire apparaître ces troubles avec plus de netteté. Ainsi que nous le verrons dans le chapitre suivant, il est facile d'obtenir ce résultat, d'augmenter ou de diminuer à volonté la gravité des manifestations pathologiques en augmentant ou en diminuant la rapidité de la formation des précipités, par une préparation convenable des solutions à injecter.

En résumé, l'arsénobenzène, le luargol et probablement aussi le galyl introduits dans l'organisme, ne peuvent pas être éliminés tels quels par les reins, parce qu'ils forment dans l'urine des précipités insolubles. Le novoarsénobenzène peut être éliminé par cette voie, excepté dans les cas où le plasma et l'urine contiendraient une trop forte proportion de phosphates de chaux.

Les trois premiers produits commencent toujours par être transformés dans le sang en composés insolubles, le novoarsénobenzène seulement dans les cas de diabète phosphatique. Les précipités ainsi formés sont redissous par certaines bases organiques, qui donnent avec ces produits des composés nouveaux plus stables, solubles dans des milieux neutres et ne précipitant pas par les sels contenus dans le plasma. C'est sous cette forme qu'ils peuvent être éliminés dans l'urine.

Les leucocytes jouent probablement un rôle important dans la redissolution des précipités.

TOXICITÉ.

L'arsénobenzène et le luargol sont solubles dans l'eau à l'état mono- et disodique et, bien entendu, on peut obtenir des solutions contenant des quantités de soude intermédiaires entre ces deux limites et aussi des solutions contenant un petit excès de soude. Un grand excès de soude aurait pour résultat d'amener une décomposition plus ou moins rapide de ces produits.

Les solutions monosodiques sont plus colloïdales, moins fluides que les solutions disodiques; aussi quand on soumet une série de ces solutions aux réactions que nous avons indiquées plus haut, on constate que la rapidité avec laquelle se forment les précipités est inversement proportionnelle à la quantité de soude contenue dans les composés.

Dans les expériences qui suivent, nous n'indiquerons que les résultats des réactions du *luargol*. Elles ne présentent d'ailleurs que des différences de détail avec celles de l'arsénobenzène.

EXPÉRIENCE I. — On prépare 4 solutions de luargol : n° 1, monosodique; n° 2, contenant 1 et 1/2 molécule de soude; n° 3, disodique; n° 4, contenant un demi-molécule de soude en excès. Avec ces 4 solutions, on fait des dilutions à 1 pour 5.000 dans de l'eau distillée, à laquelle on a ajouté 8 pour 1.000 de chlorure de sodium pur et 1 pour 10.000 de biphosphate de chaux. On laisse ouverts les tubes contenant ces dilutions.

On constate alors que, dans la solution monosodique, le trouble apparaît en quelques minutes; la solution n° 2 ne se trouble qu'après 20 à 30 minutes; la solution n° 3 ne se trouble qu'après 5 ou 6 heures; la solution n° 4 après plus de 12 heures.

Quand on injecte aux lapins ces différentes solutions de même concentration et en ayant soin que la durée des injections soit la même : (1 minute), on constate que la solution monosodique est déjà pathogène à la dose de 0,01 à 0,02 centigrammes par kilogramme. Le lapin, injecté dans la veine de l'oreille, commence, aussitôt après l'injection, à manifester une forte dyspnée, ensuite, il peut avoir quelques mouvements convulsifs, a de la difficulté à se tenir sur ses pattes et tombe sur le flanc. Un peu plus tard, il y a émission d'urine et diarrhée. Cette crise peut durer quelques minutes et le lapin succombe ou revient à la santé.

Les mêmes doses de 0,01 à 0,02 centigrammes par kilogramme des solutions

nos 2, 3 et 4 sont supportées, dans les mêmes conditions, sans aucune manifestation pathologique.

La dose de 0,05 centigrammes par kilogramme de la solution monosodique est toujours mortelle pour le lapin. La crise apparaît plus rapidement et se termine par un choc apoplectique.

La solution no 2 peut donner à la même dose un peu de dyspnée, les deux dernières sont bien supportées.

A la dose de 0,10 centigrammes la solution no 2 apparaît aussi toxique que la solution no 1 ; à la dose de 0,05 centigrammes, les solutions no 3 et 4 sont encore bien supportées. Il faut environ 0,12 centigrammes, par kilogramme, pour provoquer une crise appréciable par la solution disodique et 0,15 centigrammes par la solution hyperalcaline. Les doses mortelles de ces deux solutions peuvent varier entre 0,15 et 0,20 centigrammes par kilogramme.

L'injection de la solution hyperalcaline est douloureuse, les veines injectées se bouchent quelque temps après et s'atrophient le plus souvent. Les solutions mono- et disodiques ne provoquent jamais ni indurations ni phlébites, les accidents constatés avec les solutions hyperalcalines sont donc dus uniquement à l'excès de soude libre.

Il résulte donc tout d'abord de ces expériences que le même produit peut apparaître comme plus ou moins toxique suivant qu'il précipite plus ou moins rapidement de ses solutions, et que cette rapidité de la formation des précipités dépend de la quantité de soude combinée. Nous ne pouvons pas encore en conclure que les causes des crises observées et de la mort rapide de l'animal sont dues uniquement à l'action purement mécanique des précipités sur la circulation capillaire.

Cette preuve, nous la trouvons en modifiant simplement la technique des injections, en faisant durer l'injection plus ou moins longtemps, ainsi que le conseille Fleig (1), ou bien, suivant l'heureuse inspiration de M. Milian, en injectant en même temps un peu d'adrénaline, c'est-à-dire un vaso-constricteur énergique.

Ainsi une dose du composé monosodique sûrement mortelle quand elle sera injectée en une minute, sera bien tolérée, sans aucun trouble apparent, quand on aura fait durer l'injection pendant 15 minutes.

On obtient encore le même résultat quand on injecte le même produit sous la peau au lieu de le faire dans la veine. Dans ce dernier cas, nous avons prolongé le temps de la formation du précipité et diminué d'autant la grosseur des granules et leur accumulation dans les capillaires. Il y a là

(1) *La Toxicité du salvarsan.* A. Maloine, édit., 1914.

quelque chose de tout à fait analogue à ce qui arriverait si, au lieu d'assener sur le bulbe du lapin un seul coup assez fort pour le tuer, on le frappait 20 fois avec une force 20 fois moindre.

En tout cas, dans les causes des troubles plus ou moins graves des crises dites « nitritoïdes » de M. Milian et de la mort de l'animal quand elle survient aussitôt après l'injection, il n'y a rien de comparable à un empoisonnement proprement dit, par exemple à l'action toxique d'un alcaloïde ou d'un glucoside.

L'autopsie des animaux morts en quelques minutes à la suite d'une injection d'une forte dose en solution concentrée, ne laisse plus aucun doute sur la nature de l'action de ces produits. On trouve dans le cœur droit, ainsi que cela a déjà été constaté par Ch. Fleig, de petits grumeaux analogues à ceux qui se forment au fond des tubes dans les expériences *in vitro* et qui se redissolvent également dans un petit excès de soude.

Le poumon, fortement congestionné, est parsemé de points hémorragiques et on trouve de ces infarctus dans le système nerveux central ainsi que dans tous les organes, ce qui indique qu'il y avait là partout des embolies causées par le précipité.

Il est bien plus difficile de constater la présence d'un précipité dans les cas de crises passagères, dont la durée est de quelques minutes et dépasse rarement une heure. On trouve dans ces cas des inclusions hyalines, sans forme précise à l'intérieur des leucocytes, mais il nous a été impossible de déterminer la nature de ces inclusions, qui finissent par disparaître si on peut conserver les leucocytes assez longtemps en vie sur le porte-objet du microscope. Toutefois, le peu de durée de ces crises nous autorise à admettre que les précipités formés dans ces conditions doivent être redissous assez rapidement dans le sang ou à l'intérieur des leucocytes.

On peut donc affirmer que les manifestations pathologiques, plus ou moins graves et plus ou moins localisées, qui apparaissent quelques minutes ou quelques heures après l'injection, parfois même avant que l'injection ne soit terminée, et que nous proposons d'appeler *crises du premier degré*, n'ont rien de commun avec la toxicité proprement dite du produit. Quand une telle crise se produit chez un individu à composition de sang normale, c'est-à-dire ne contenant pas au moment de

l'injection une quantité de sels (chlorures, carbonates, phosphates de soude, de chaux, de magnésie, de fer, etc.) supérieure à la normale, on peut être certain qu'elle a eu pour cause une préparation défectueuse de la solution injectée, soit que la soude était trop carbonatée ou que l'eau qui a servi à la dissolution contenait trop d'impuretés. Les expériences qui suivent nous le prouvent d'une façon incontestable.

Expérience II. — On injecte à deux lapins 0,05 centigrammes d'une solution *monosodique*. Les deux animaux présentent quelques minutes après de fortes crises avec dyspnée et convulsions.

Un de ces lapins reçoit quelques heures après, quand il nous semble complètement rétabli, 0,25 centigrammes du même produit *disodique*, l'autre est traité le lendemain de la même façon.

Dans les deux cas les doses quatre fois plus fortes ont été supportées sans aucun trouble (1).

Expérience III. — On injecte à un lapin de 2 kil. 450 gr., 0,25 centigrammes d'une solution disodique, et à un autre d'un poids de 2 kil. 610 gr., 0,20 centigrammes de la même solution, et immédiatement après 0,60 centigrammes de biphosphate de chaux.

Le premier lapin a supporté son injection sans aucun trouble, le second a eu une forte crise.

On peut se faire une idée assez exacte de la dose réellement toxique de ces produits en les injectant sous la peau.

Dans ce cas, il n'y a jamais de troubles du premier degré et la dose toxique est la même pour tous les animaux d'expérience, lapins, cobayes, souris, quelle que soit la préparation (acide mono- ou disodique) et la concentration de la solution. Les animaux injectés sous la peau ne meurent jamais d'une crise rapide, mais 1, 2 ou 3 jours après l'injection. La dose toxique est, dans ce cas, à peu près la même pour tous les animaux, soit de 0,15 à 0,20 centigrammes par kilogramme.

A ces hautes doses, les arsénobenzènes doivent produire un trouble profond dans l'état d'équilibre du plasma sanguin, en se combinant avec les sels et surtout les phosphates de chaux, et ce trouble ne peut pas être indifférent pour les organes et les tissus.

(1) Nous avons reconnu plus tard qu'une petite dose injectée quelques minutes, quelques heures ou même quelques jours avant une dose mortelle pour les témoins est *vaccinante* pour les doses suivantes.

Le sang d'un animal mort d'une forte dose d'arsénobenzène ou de luargol reste incoagulable pendant plus de 24 heures.

Les médecins qui ont eu à appliquer ces produits n'ont pas manqué de remarquer les corrélations entre le rôle de la soude et des impuretés de l'eau, et les accidents du premier degré qu'ils ont eu l'occasion d'observer après les injections de 606.

C'est ainsi que M. Queyrat (1), ayant constaté que les différents échantillons de 606 pouvaient être plus ou moins acides et les solutions de soude plus ou moins carbonatées, ajoute d'abord à la solution acide de 606 autant de soude qu'il est nécessaire pour obtenir une solution limpide et ensuite un tiers de soude en plus. Il obtient de cette façon une solution hyperalcaline qui lui permet d'éviter les crises nitritoïdes.

M. Milian (2) a constaté que l'arsénobenzène exactement alcalinisé donne des crises nitritoïdes bien plus souvent que le même produit un peu hyperalcalinisé. Dans ce dernier cas, il attribuait les crises à une hypoalcalinité du sang.

M. Milian a réussi à atténuer ou à prévenir les crises nitritoïdes par des injections d'adrénaline, ce qui ne peut que confirmer l'hypothèse d'une cause toute mécanique de ces crises.

Dans une série de notes et de mémoires sur les accidents imputés au 606, sur les causes de ces accidents, la responsabilité des impuretés de l'eau et du sel dont on a pu se servir par mégarde pour préparer les solutions, M. Emery (3) insiste sur les dangers des solutions hypo- et hyperalcalines. Aux pre-

(1) Queyrat, Salvarsan et néo-salvarsan, *Bulletins et Mémoires de la Soc. méd. des Hôp.*, 31 juillet 1914.

(2) Milian, Les intolérants du 606. *Soc. de Dermat.*, 5 déc. 1912.—L'adrénaline antagoniste du salvarsan. *Soc. de Dermat.*, 5 déc. 1913.—Crise nitritoïde et apoplexie séreuse empêchées et guéries par l'adrénaline. *Soc. de Dermat.*, 5 février 1914.

(3) Emery, les injections intraveineuses de 606 (*Monde médical*, mai-juin 1911). — E. et Lacapère, Des accidents imputés au salvarsan et les moyens de les éviter (*La Clinique*, 5 janvier 1912). — Sur les causes probables des accidents. . (*Bull. de la Soc. de l'Internat*, février 1912). — Quelques appréciations sur le néosalvarsan (*La Clinique*, 2 août 1912). — Comment doit être préparée l'injection du salvarsan (*La Clinique*, 3 novembre 1911). — De l'eau distillée pure et sans sel dans la préparation du salvarsan (*Soc. de Dermat.*, 2 mai 1912). — Nouvelles preuves de la responsabilité des impuretés de l'eau distillée dans la production des accidents de la Salvarsan-thérapie (*Soc. de Dermat.*, 9 janvier 1914). — Du rôle pathogène des impuretés minérales de l'eau distillée (*Soc. de Dermat.*, 6 juin 1912). — *Traitement abortif de la syphilis* (Vigot, 1914). — Nouvelle contribution à l'étude des accidents du salvarsan (*La Clinique*, 24 avril 1914).

mières il attribue les phénomènes congestifs, aux secondes les thromboses des veines injectées. M. Emery attribue, avec beaucoup de raison, bien des cas d'intolérance à l'usage du sel marin plus ou moins pur pour préparer les solutions isotoniques du 606, et conseille de remplacer ces solutions par de l'eau distillée bien pure, ou, d'accord en cela avec Ch. Fleig (1), par une solution isotonique de sucre. Il montre avec preuves à l'appui que l'eau distillée préparée dans des récipients impropres ainsi que le sel imparfaitement pur, peuvent contenir des traces de sels de soude, chaux, magnésie, plomb, cuivre, zinc, et être la cause de bien des accidents.

M. Paul Ravaut (2) a reconnu, lui aussi, le rôle du sel marin dans la formation du précipité, et conseille de ne faire les solutions que dans l'eau distillée et aussi concentrées que possible. Les accidents d'intolérance qui, malgré toutes les précautions prises, peuvent se produire à la suite d'injections de l'ancien 606, beaucoup plus rarement avec le novoarsénobenzène, doivent être attribués, de l'avis de M. Ravaut, « à un humorisme spécial, une décomposition du médicament ou des modifications humorales encore mal connues que nous n'aurions pas hésité, il y a quelques années, à ranger dans le cadre des idiosyncrasies ». Nous avons vu plus haut comment on peut expliquer ces accidents que rien ne permettait de prévoir jusqu'à présent. Voici un de ces accidents cités par M. Paul Ravaut :

« Nous venions d'injecter 0,45 centigrammes d'arsénobenzène par voie intraveineuse à un jeune homme robuste de dix-sept ans, lorsqu'il présenta une série de symptômes assez alarmants que nous n'avions encore jamais observés. L'aiguille est à peine retirée de la veine que le malade est pris brusquement d'oppression, se plaint de bouffées de chaleur, de fourmillements, qui, débutant au niveau des extrémités, envahissent rapidement les membres et le tronc. Il accuse une angoisse très vive, présente quelques suffocations et puis s'affaisse sur une chaise. En même temps apparaissent sur le corps des taches rouges disséminées en placards, les yeux s'injectent de sang et le malade émet involontairement quelques gouttes de salive spumeuse... Tous ces phénomènes, au bout de quelques minutes, diminuent

(1) Ch. Fleig, *La toxicité du salvarsan* (Maloine, édit., 1914).

(2) P. Ravaut, Accidents consécutifs aux injections de salvarsan ancien (*Gaz. des Hôp.*, 14 février 1911 et *Bulletin et Mémoires de la Soc. méd. des Hôp.*, 17 novembre 1911). — Leur comparaison avec la crise anaphylactique : humorisme spécial (*Soc. méd. des Hôp.*, 17 novembre 1911). — Récidives et réinfections (*Presse Médicale*, 13 septembre 1913). — Préparation des injections de néosalvarsan (*Soc. de Dermatologie*, 6 février 1913).

d'intensité, nous sommes tout à fait rassurés sur son état... Une heure après apparaissent les douleurs intestinales et des vomisssements; ces accidents durent quatre heures et la température s'élève à 38°5. Le lendemain matin, le malade est complètement remis. »

Nous avons tenu à reproduire textuellement cette observation de M. Paul Ravaut, non seulement parce qu'elle donne un tableau aussi exact et aussi complet que possible de l'ensemble des symptômes pathologiques du premier degré que l'on peut observer après l'injection des arsénobenzènes, mais aussi parce que l'auteur fait suivre cette observation d'une réflexion d'un très grand intérêt. M. Ravaut dit, en effet, à la fin de son article : « On ne peut s'empêcher de rapprocher ces accidents de ceux que l'on considère comme caractéristiques de l'anaphylaxie aiguë, du choc anaphylactique, suivant l'expression de Besredka. Comme eux, ils ont un début brusque, apparaissant au cours ou quelques instants après l'injection intraveineuse; même terminaison brusque après s'être présentés sous un tableau clinique des plus impressionnants. Nous y retrouvons également les symptômes cardinaux de l'état du choc anaphylactique : l'asthénie subite, la dyspnée, les vomissements, les phénomènes circulatoires périphériques, la diminution de conscience. » M. Ravaut dit encore plus loin qu'au point de vue pathogénique, une différence capitale doit séparer les phénomènes qu'il vient de décrire et les accidents anaphylactiques : « Alors, dit-il, que les substances susceptibles de produire l'anaphylaxie sont des matières albuminoïdes : actinocongestine de Richet, sérum de cheval, etc., c'est au contraire à la suite d'un composé non albumineux que nous voyons apparaître des accidents rappelant si bien le choc anaphylactique. »

Nous nous bornerons, pour le moment, à faire remarquer, à propos de cette dernière réflexion de M. Ravaut, que les arsénobenzènes, tout en n'étant pas des albumines, en possèdent les principales propriétés physico-chimiques, et notamment celle de *précipiter en présence de sels et de combiner ou de fixer avec une grande énergie la plupart des substances avec lesquelles ils viennent en contact. Ils forment des complexes très compliqués dans lesquels on trouvera très certainement à l'état de traces, en dehors des produits indiqués dans les formules, toutes*

les substances et impuretés contenues dans l'eau et les produits avec lesquels ils sont venus en contact pendant les innombrables manipulations nécessaires à leur fabrication. L'ensemble de ces substances, de ces impuretés, doit jouer un rôle très considérable dans l'action thérapeutique de ces produits.

Nous traiterons cette question plus en détail dans un mémoire spécial.

Les notions les plus précises sur le rôle des précipités comme cause de la mort rapide des animaux d'expérience ont été données par Ch. Fleig dans son remarquable travail expérimental déjà cité sur *La toxicité du salvarsan.*

Fleig a pu suivre *in vivo* la formation du précipité dans le sang, et l'attribue avec raison à la transformation du produit alcalin en base insoluble sous l'influence de l'acide carbonique en présence de chlorure de sodium. Il a parfaitement reconnu que ce qu'on appelait alors la *toxicité de l'arsénobenzène* acide ou alcalin, et que nous appelons *accidents du premier degré*, dépend uniquement de la technique des injections plus ou moins lentes ou plus ou moins concentrées et que, toutes choses d'ailleurs égales, on peut atténuer considérablement ces accidents par l'addition de sucre (glucose ou lactose) à la solution, parce que, en présence de sucre, la formation du précipité est retardée et les grumeaux plus fins.

Il est certain que si Ch. Fleig n'avait pas été enlevé brusquement à ses travaux et avait pu continuer ses intéressantes expériences, il aurait reconnu la complexité de constitution physico-chimique des arsénobenzènes et l'importance du rôle des composés du sang autres que l'acide carbonique et le chlorure de sodium. Il aurait reconnu l'importance des phosphates et, plus particulièrement, des phosphates de chaux qui forment avec les arsénobenzènes des composés difficilement solubles.

Son attention aurait été attirée aussi sur ce fait d'une importance capitale que, si la formation d'un précipité dans le sang, par suite de l'action de l'acide carbonique et du sel marin, explique bien la plupart des accidents du premier degré quand on injecte les arsénobenzènes insuffisamment alcalinisés et à forte dose, ce phénomène à lui seul ne *nous explique pas du tout les accidents tardifs que l'on peut appeler du deuxième*

degré et provoqués par des doses relativement très faibles, par des doses qui, chez les lapins, ne provoquent jamais aucun accident d'aucune sorte, quelle que soit la technique de l'injection et la préparation de la solution.

La posologie pour l'homme est, en effet, de 5 à 15 milligrammes par kilogramme pour le novoarsénobenzène, de 2 à 10 milligrammes pour l'arsénobenzène et pour le galyl, de 0,5 à 5 milligrammes par kilogramme pour le luargol. Il faudrait probablement injecter des milliers de lapins pour en trouver un qui réagirait, par hasard, aux plus fortes de ces doses. Pourtant, chez l'homme, ces réactions, relativement peu fréquentes avec les produits neutres (novo ou néo) sont, au contraire, la règle avec l'arsénobenzène et le galyl, très rares avec le luargol. Il ne s'agit là, bien entendu, que de ces réactions peu graves : nausées, vomissements, diarrhées, céphalées et fièvres légères, et non pas de ces crises nitritoïdes décrites par M. Milian et qui deviennent relativement de plus en plus rares.

Ces troubles légers, produits par de très petites doses, ne peuvent pas être expliqués par la simple transformation des composés alcalins en bases insolubles quand il s'agit d'arsénobenzène ou de luargol, et encore moins quand ils se produisent après l'injection de novoarsénobenzène, qui n'est pas influencé par l'acide carbonique, les bicarbonates et le chlorure de sodium. Les causes de ces troubles doivent être cherchées plutôt dans la formation des composés insolubles et plus stables que tous ces produits forment avec les sels de chaux, dans la décalcification plus ou moins prenoncée du plasma, et peut-être aussi de certaines cellules de l'organisme.

Nous ne pouvons actuellement qu'indiquer cette nouvelle direction dans la recherche du mécanisme de l'action thérapeutique et toxique de ces produits. Les observations et les expériences faites jusqu'à présent n'ont jamais envisagé la question à ce point de vue et ne peuvent nous fournir aucun élément d'appréciation. Toutes ces recherches avaient été dominées jusqu'à présent par l'idée d'Ehrlich d'un parasitotropisme spécial, pour ainsi dire exclusif, mais s'il y a peut-être quelque chose de vrai dans cette idée, il n'en est pas moins certain qu'il serait difficile de trouver un produit plus orga-

notrope que l'arsénobenzène et que, par conséquent, le mécanisme de l'action parasiticide peut être tout autre que ne l'admettait Ehrlich.

On arrivera probablement à résoudre ce problème, en analysant avec soin les éléments des accidents qui surviennent dans le traitement des malades ou que l'on peut provoquer chez les animaux d'expériences, en recherchant, par l'examen anatomo-pathologique des lésions et par l'analyse du sang et des urines, les causes et la nature des transformations du produit injecté et des liquides de l'organisme.

Résumé. — Il résulte de ce qui précède que les produits du groupe de l'arsénobenzène agissent sur l'organisme, *en premier lieu* par les combinaisons insolubles qu'ils contractent avec les gaz et les sels contenus dans le plasma et, en particulier, avec les sels de chaux.

Ils peuvent donc agir, d'une part, *mécaniquement* en produisant des embolies dans les capillaires, d'autre part, *physiquement et chimiquement* en troublant plus ou moins profondément l'équilibre chimique et osmotique du sang, et par contre-coup les échanges entre le plasma et les cellules des tissus et des organes.

Les troubles du premier degré sont causés uniquement par l'action mécanique du précipité.

Le degré de gravité de ces troubles peut dépendre de la préparation de la solution injectée, ou bien d'une prédisposition spéciale du malade.

Les symptômes observés dans ces deux cas étant identiques, on peut en conclure que la cause des troubles est la même, c'est-à-dire, dans le cas d'une hypersensibilité du malade, une richesse plus grande du plasma en sels, par exemple un diabète phosphatique passager ou durable.

Les troubles du premier degré ne donnent aucune indication sur la toxicité vraie d'un de ces produits. Ils indiquent simplement une préparation défectueuse de la solution ou bien une hypersensibilité du malade.

Les expériences sur les animaux permettent d'affirmer que les doses thérapeutiques employées chez l'homme (1 milligramme à 1 centigramme par kilogramme) ne peuvent pas

apporter un trouble appréciable dans l'équilibre chimique et osmotique du sang à constitution normale.

La dose réellement toxique serait donc la quantité du produit qui troublerait cet équilibre d'une façon profonde et assez durable pour amener la mort en 1, 2 ou 3 jours, sans avoir été précédée de manifestations du premier degré.

Les limites de tolérance de tous les animaux de laboratoire aux composés du groupe de l'arsénobenzène actuellement en usage, oscillent entre 0,15 et 0,20 centigrammes par kilogramme. Les animaux injectés avec des quantités supérieures à ces limites, et qui en ont supporté l'injection sans avoir manifesté aucun trouble appréciable aussitôt ou peu de temps après, succombent généralement 1 à 8 jours plus tard. *Ce seraient donc là les doses vraiment toxiques.*

Intolérances.

A en juger par les observations recueillies et publiées jusqu'à présent, on doit diviser l'intolérance aux composés de l'arsénobenzène en deux catégories nettement distinctes : l'*intolérance préexistante* et l'*intolérance acquise.*

Dans le chapitre précédent, nous avons cherché à déterminer les causes d'une de ces catégories d'intolérance, et notamment les causes des troubles du *premier degré* qui se manifestent immédiatement ou peu de temps après la première injection. Nous avons vu que ces troubles et le degré de leur gravité doivent être attribués à la richesse plus ou moins grande du plasma en sels et plus particulièrement en phosphates ou carbonates de chaux, qui forment avec les arsénobenzènes des composés insolubles et peuvent déterminer ainsi des embolies dans les capillaires.

Ce qu'il importe surtout de faire remarquer et ressortir ici, c'est que les troubles les plus légers (simple céphalée, un frisson ou une élévation de température de un degré pendant 1 ou 2 heures) et les plus graves crises nitritoïdes sont produits par les mêmes causes, que les différences sont purement quantitatives et aussi que cette intolérance passagère *s'atténue à chaque injection*, même si les doses successives sont chaque fois plus élevées. Ainsi, par exemple, si, à la suite de la pre-

mière injection de 0,10 centigrammes, on note une fièvre de 38°5, la deuxième injection de 0,15 centigrammes, faite 3 ou 4 jours après, ne sera suivie que d'une élévation de température de 38°; à la troisième injection de 0,20 centigrammes il n'y aura que 37°5, aux injections suivantes de 0,25 et 0,30 centigrammes, il n'y aura que des élévations de température à peine appréciables ou pas du tout. Très souvent, il n'y a de réaction qu'après la première injection.

L'expérience sur les lapins donne, à ce sujet, des résultats d'un très grand intérêt théorique et pratique :

Expérience IV. — On injecte à un lapin 0,20 centigrammes de 606 *monosodique*. Il succombe en quelques secondes après quelques soubresauts convulsifs.

Un deuxième lapin reçoit une première injection de 0,03 centigrammes de la même solution, qu'il supporte sans aucun trouble; il supporte aussi sans trouble appréciable, quelques heures après, une deuxième injection de 0,25 centigrammes de la même solution *monosodique*.

Expérience V. — Une série de lapins reçoivent dans les veines 0,20 à 0,25 centigrammes de luargol *disodique* qu'ils supportent sans aucune réaction apparente, 5 à 30 jours après, ces lapins supportent aussi sans réaction une dose de 0,20 centigrammes de 606 *monosodique* qui tue les témoins en quelques instants.

Chez l'homme, on peut, bien entendu, trouver des exceptions à cette règle, mais ces exceptions peuvent être facilement expliquées par des écarts de régime ou une excitation quelconque.

Les observations et les expériences précitées nous permettent donc de conclure que, si aucune cause étrangère ne vient troubler la marche régulière de ces réactions, *les choses se passent comme si la quantité des produits, causes de l'intolérance, qui sont contenus dans le plasma du malade traité, diminuait à chaque injection, ou bien que les bases organiques qui solubilisent les précipités s'accumulent dans le sang ou y apparaissent plus rapidement et en quantité plus grande après chaque injection.*

Chacune de ces deux réactions peut à elle seule aboutir au même résultat et leur coexistence est aussi possible; toutefois la longue durée de l'immunité acquise après une première injection nous fait penser que cette immunité est due principalement à l'accumulation ou plutôt à la formation constante dans le sang des produits solubilisants et, dans ce cas, une première injection serait *vaccinante* pour les injections suivantes dans le sens propre de ce mot, c'est-à-dire que cette première injection aurait pour résultat de *stimuler l'organisme à produire des substances capables de le protéger contre les dangers des injections suivantes.*

Les accidents du premier degré ne sont jamais suivis d'une issue fatale, on peut les prévenir ou les atténuer par l'adrénaline suivant le conseil de M. Milian, et les médecins habitués à l'emploi des arsénobenzènes n'y attachent pas une importance exagérée.

« Il en est tout autrement — nous disait souvent M. L. Fournier, qui nous a permis, avec beaucoup de bonne grâce, de suivre dans son service, à l'hôpital Cochin, le traitement par le luargol de plus de 3.000 malades — de ces accidents tardifs, que nous n'avons heureusement jamais eu l'occasion d'observer chez nous, dont les premiers symptômes apparaissent 2 à 8 jours après la deuxième ou une quelconque des injections suivantes et qui sont quelquefois mortels. Ce sont ces accidents qui, bien que très rares (on en compte un pour des milliers de cas traités) nous font hésiter à employer des doses convenables pour obtenir une guérison radicale de nos malades, parce que rien, jusqu'à présent, ne nous a permis de prévoir lequel de nos malades sera un intolérant et à quel moment du traitement il peut le devenir. Ce qu'il faudrait donc trouver pour obtenir des guérisons plus fréquentes, comme on guérit certaines trypanosomiases des animaux d'expérience (1), ce sont les causes de ces accidents tardifs, toujours très dangereux, et les moyens de les éviter ou tout au moins de les prévoir. »

Je n'ai jamais eu l'occasion d'observer chez l'homme un de ces cas d'intoxication grave ou mortelle que je rangerai dans la *deuxième catégorie d'intolérances.*

(1) J. Danysz, Traitement des trypanosomiases, etc. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences,* t. CLIX, p. 452, 24 août 1914.

Pour fixer les idées, nous citerons un de ces cas décrits par M. Paul Ravaut dans le *Journal médical français* du 15 octobre 1911 :

Jeune femme de dix-huit ans, robuste, sans tare, atteinte de syphilis secondaire, enceinte de trois mois. Première injection intraveineuse de 0,40 centigrammes bien supportée. Deuxième injection intraveineuse de 0,50 centigrammes cinq jours après. Le lendemain, agitation, congestion de la face.

Trois jours après la seconde injection, brusquement, élévation rapide de la température à 40°, crises épileptiformes, coma, stertor, mort quatorze heures après. Pendant cette période de coma, la malade est sondée et les urines paraissent normales, sans albumine.

Autopsie. — Congestion de tous les viscères. Le foie et les reins sont peu altérés histologiquement. *Congestion et hémorragie microscopiques des poumons et du tube digestif.*

M. Paul Ravaut cite encore six autres observations analogues, dans lesquelles c'est toujours la deuxième injection qui a provoqué la crise fatale.

Il est à remarquer que dans ces sept cas les doses employées étaient relativement fortes : 0,40 à 0,60 centigrammes pour la première et la deuxième injection; que la deuxième injection avait été faite à 3 à 40 jours après la première, que les premiers symptômes alarmants n'apparaissent que 1 à 3 jours et le coma à 3 à 5 jours après l'injection.

M. Paul Ravaut (1) fait suivre ces observations des réflexions suivantes : « Il suffit de jeter un coup d'œil sur ces sept observations pour voir qu'elles sont toutes superposables. Il s'agit chaque fois de sujets jeunes, robustes, sans tares viscérales, qui, pour une syphilis récente, reçoivent une première injection de 606; elle est bien supportée et quelques jours après on pratique une seconde injection. Cette dernière est moins bien tolérée : on note des vomissements, de la congestion de la face, de l'agitation, de l'élévation de température, puis entre le 3e et le 5e jour, apparaissent des convulsions épileptiformes, le malade tombe dans le coma et meurt avec une respiration stertoreuse 12 à 24 heures après le début des accidents.

« A l'autopsie on retrouve dans tous les cas *une congestion intense de tous les viscères, des hémorragies interstitielles* et des altérations viscérales variées. »

(1) P. Ravaut, Sur un type spécial d'accidents nerveux et cutanés, etc. *Bulletins et Mémoires de la Soc. méd. des Hôpitaux*, séance du 17 novembre 1911, p. 367.

Cette intolérance tardive, qui s'est manifestée dans les cas cités par M. Ravaut à la suite d'une deuxième injection d'une dose relativement élevée, supérieure, pour la 1re et la 2e injection, à 0,40 centigrammes, peut se manifester après la 3e, 4e ou 6e injection d'une série de doses plus faibles, de 0,20 à 0,40 centigrammes.

En compulsant un certain nombre de ces observations et des procès-verbaux d'autopsies publiés jusqu'à présent, et après avoir éliminé les cas douteux dans lesquels la mort du malade a pu être causée par un défaut de fonctionnement du foie ou du rein, on peut résumer l'évolution de ces accidents tardifs de la façon suivante :

1° L'intolérance ne diminue pas dans le cours du traitement; au contraire, la durée et la gravité des troubles augmentent à la deuxième injection ou aux injections qui suivent.

2° Les troubles, qui débutent par des nausées ou des vomissements, continuent à se manifester par des céphalées, courbatures, urticaires ou éruptions scarlatiniformes, et par des températures voisines de 40°, qui peuvent persister pendant 2 à 5 jours et se terminer quelquefois par des convulsions et le coma.

3° A l'autopsie on trouve une congestion de tous les viscères, des hémorragies dans le poumon, le foie, le rein, le tube digestif, le système nerveux central.

Les manifestations pathologiques et leurs causes sont donc les mêmes dans les crises du premier degré et dans les accidents tardifs; *ce qui diffère, c'est la durée de la crise* qui n'est que de quelques minutes ou quelques heures dans le premier cas, de quelques jours dans le second et c'est *la durée de la crise qui est la cause de la gravité et de la généralisation des lésions.*

Nous sommes donc obligés d'admettre qu'il se passe ici un phénomène exactement contraire à ce que nous avons constaté pour l'intolérance de la première catégorie : *le précipité ne se redissout pas, parce que la quantité des produits précipitants contenus dans le sang augmente, ou parce que les produits dissolvants ne se forment pas en quantité suffisante.*

On peut reproduire ces crises chez les animaux d'expérience par l'injection de doses encore bien tolérées, mais relativement

beaucoup plus fortes (0,05 à 0,10 centigrammes par kilogramme chez le lapin au lieu de 0,005 milligrammes à 0,01 centigramme par kilogramme chez l'homme), en faisant suivre les injections d'arsénobenzène par des injections de 0,40 à 0,60 centigrammes de biphosphate ou de glycérophosphate de calcium, qui, seuls, sont aussi très bien tolérés, ainsi que nous l'avons vu dans l'expérience III.

On voit alors des crises caractérisées par tout l'ensemble des symptômes que nous connaissons apparaître 4 à 6 heures après l'injection des phosphates. Chez un certain nombre d'animaux ces crises sont rapidement fatales; chez d'autres, elles peuvent durer plusieurs heures et les animaux peuvent revenir à l'état normal.

Il n'est guère possible d'obtenir par l'expérience une diminution des produits solvants, mais il est bien probable que l'hypersensibilité est provoquée plutôt par le manque des produits solvants que par une surproduction des précipitants.

Quelles peuvent être les causes de ces différences dans les réactions de l'organisme? Pourquoi l'organisme acquiert-il une certaine immunité dans l'immense majorité de cas et devient-il, au contraire, plus sensible ou anaphylactisé dans certains autres?

Des analyses plus précises des réactions biologiques et chimiques des liquides et des organes nous l'apprendront sans doute et nous espérons pouvoir reprendre cette étude prochainement.

Résumé. — Quelles que soient les considérations théoriques que les observations et expériences qui précèdent peuvent suggérer, nous n'avons pour le moment d'autre but que de dégager de cette étude les faits suivants :

1° Les arsénobenzènes ne peuvent être éliminés de l'organisme qu'après avoir été transformés en composés solubles dans les milieux neutres et non précipitables par les sels, c'est-à-dire après avoir passé de l'état colloïdal à l'état de sels qui n'ont plus aucune affinité pour les substances de l'organisme.

2° Cette transformation consiste en deux réactions successives : formation d'un précipité et redissolution de ce précipité.

3° La formation du précipité peut causer des troubles plus

ou moins légers ou graves suivant la quantité des substances précipitées et le temps pendant lequel elles restent sous cette forme.

4° La solubilisation du précipité résulte très probablement de la combinaison des arsénobenzènes avec certaines bases organiques et de leur sulfonation qui a pour résultat de former ainsi des composés très stables, solubles dans des milieux neutres et qui ne précipitent pas par les sels.

5° Une première injection immunise l'organisme, dans la grande majorité de cas, contre la réaction précipitante des injections suivantes, ce qui indique que la première injection provoque dans l'organisme une formation continue des produits solubilisables.

6° Dans certains cas, très rares, il y a, au contraire, inhibition de la fonction de sécrétion des produits solubilisants et l'organisme devient plus sensible à la deuxième injection qu'il ne l'était à la première.

De l'ensemble de ces faits, on peut dégager les conseils suivants pour l'emploi des arsénobenzènes dans la pratique médicale :

1° Commencer le traitement par l'injection d'une très faible dose (0,01 à 0,03 centigrammes) qui vaccinera l'organisme et lui permettra de supporter sans réaction les injections suivantes.

2° Observer soigneusement les réactions qui peuvent se produire après l'injection suivante qui doit être faite aussi à petite dose et que l'on peut faire 1 à 4 jours après la première. Si cette deuxième injection est aussi bien ou mieux supportée que la première, on peut continuer le traitement et augmenter progressivement les doses sans crainte de complications. Dans le cas contraire, il serait préférable d'interrompre le traitement pendant 8 à 15 jours ou d'injecter une ou plusieurs doses vaccinantes de 5 à 10 milligrammes. Nous croyons pouvoir ajouter que les crises tardives, généralement très graves, qui se prolongent pendant plusieurs jours, pourraient très probablement être combattues avec succès par l'injection d'une ou plusieurs doses vaccinantes, dès l'apparition des premiers symptômes alarmants.

NOTE

SUR LES RÉSULTATS DE 12.000 HÉMOCULTURES

par A. LEBOEUF, médecin-major de 2e classe,
et P. BRAUN, médecin aide-major de 2e classe.

Au laboratoire de bactériologie de l'Hôpital Central de Contagieux de B..., où l'on recevait des malades évacués des lignes et des cantonnements de l'Argonne, nous avons pratiqué, de juillet 1915 à fin juin 1916, 12 028 hémocultures en bile. Le nombre considérable de ces analyses nous a permis, d'une part, de suivre d'une manière très rigoureuse durant ce laps de temps la marche des infections typhoïdiques parmi les troupes de cette région et, d'autre part, d'en déduire certaines conclusions relatives au diagnostic de ces infections, ainsi qu'à la valeur prophylactique de la vaccination antityphoïdique et antiparatyphoïdique. Notre intention est d'exposer brièvement dans cette Note ces divers résultats.

Nous avons opéré un total de 12.028 ensemencements de sang, la majeure partie de ces prises étant faites sur des malades entrant à l'hôpital, quelques centaines sur des sujets en traitement depuis plusieurs jours dans les salles. Ces 12.028 hémocultures nous ont donné 3.819 différenciations, soit environ 30 p. 100 de résultats positifs, mais ce pourcentage n'a rien d'absolu, car de *très nombreuses* hémocultures restées négatives ont été faites chez des individus qui se montrèrent par la suite atteints des affections les plus diverses (tuberculoses aiguës, méningites, pneumonies, dysenteries, courbatures fébriles, etc.). Envisagées dans leur ensemble, ces 3.819 différenciations nous ont donné :

Bacille d'Eberth. . .	386 fois.	soit :	10,08 p. 100
Paratyphique B . . .	552 —	—	14,41 p. 100
Paratyphique A . . .	2.881 —	—	75,51 p. 100
	3.819		

Mais ce résultat global n'a par lui-même qu'un intérêt assez restreint au point de vue épidémiologique, bien que montrant déjà l'énorme prédominance des cas enregistrés de paratyphoïde A; il doit être étudié dans le détail en établissant pour chaque mois le pourcentage des espèces microbiennes observées; c'est ce que nous avons fait en dressant le tableau I, dont nous allons passer successivement en revue chacune des parties. A ce tableau nous avons estimé utile d'ajouter, pour avoir un aperçu épidémiologique à peu près complet, les pourcentages de 98 résultats positifs provenant de 222 hémocultures pratiquées par M. le médecin-major Lortat-Jacob en novembre, décembre 1914, janvier, février 1915, ainsi que de 167 différenciations obtenues en avril, mai et juin 1915 (toujours dans le même laboratoire) par l'un de nous et J. Bounafous. Notons également ici que ce dernier a travaillé avec nous jusqu'aux premiers jours d'octobre 1915, et que, de novembre 1915 au 1er mai 1916, M. le médecin aide-major G. Lévy nous a prêté son concours pour les prises de sang.

Avant de passer à l'étude analytique du tableau I, il convient de faire remarquer que seuls les pourcentages ont une entière importance pour toute la série, car les chiffres portés dans la colonne « nombre d'hémocultures » ne correspondent à la totalité des sujets, dont le sang devait être ensemencé, qu'à partir de la mi-septembre 1915, c'est-à-dire à dater du moment où le laboratoire eût été mis à même de suffire au nombre considérable d'analyses qu'il avait à effectuer; à partir d'octobre 1915 les chiffres prennent en eux-mêmes toute leur valeur.

Ces réserves faites, nous observons pour les trois microbes en cause les variations suivantes :

Quelques mois après le début de la campagne, il y a presque uniquement du bacille d'Eberth qui s'observe (hémocultures du Dr Lortat-Jacob) dans 90,4 p. 100 des cas; puis une baisse régulière s'établit, et en décembre 1915, alors que *tous les sujets fébriles entrant à l'hôpital avaient leur sang ensemencé*, on ne le trouve plus que 5 fois sur 492 hémocultures positives, soit dans 1,1 p. 100 des cas. A partir de janvier 1916, la courbe remonte; nous assistons à une ascension à peu près progressive et, en juin 1916, nous notons 44 fois le bacille d'Eberth, c'est-à-dire dans 22,6 p. 100 des hémocultures positives.

Tableau I.

MOIS	TYPHIQUE	PARA B	PARA A	NOMBRE D'HÉMO-CULTURES	NOMBRE de DIFFÉRENCIATIONS	RÉSULTATS POSITIFS p. 100	EXPÉRIMENTATEURS
Nov., déc. 1914 et Janv., fév. 1915.	93 90,4 0/0	5 9,6 0/0	0 0 0/0	222	98	....	Dr Lortat-Jacob.
Avril 1915. . . .	20 58,8 0/0	7 20,6 0/0	7 20.6 0/0	......	34	....	P. Braun, J. Bounafous.
Mai 1915	28 65.1 0/0	13 30,25 0/0	2 4,65 0/0	.....	43		
Juin 1915	58 63 0/0	28 30,5 6/0	6 6.5 0/0	......	92		
Juillet 1915 . . .	57 33,7 0/0	43 25,4 0/0	69 40,9 0/0	436	169	....	A. Lebœuf, P. Braun, J. Bounafous.
Août 1915. . . .	57 14,2 0/0	86 26,5 0/0	208 59,3 0/0	757	351		
Septembre 1915.	63 12,2 0/0	109 38 0/0	217 53,8 0/0	970	389		
Octobre 1915 . .	22 3,9 0/0	113 19,8 0/0	429 76.3 0/0	1.372	564	....	A. Lebœuf, P. Braun.
Novembre 1915.	12 1,88 0/0	36 5,69 0/0	584 92,43 0/0	1.265	632	47,03 0/0	A. Lebœuf, P. Braun, G. Lévy.
Décembre 1915.	5 1,1 0/0	34 7.5 0/0	453 91,4 0/0	1.414	492		
Janvier 1916. . .	28 7,6 0/0	20 5,5 0/0	319 86,9 0/0	1.083	367		
Février 1916 . .	8 4,8 0/0	10 6 0/0	148 89,2 0/0	86	166		
Mars 1916. . . .	14 16,3 0/0	7 8,2 0/0	64 75,5 0/0	1.028	85	8,2 0/0	
Avril 1916. . . .	34 20,6 0/0	22 12,3 0/0	109 66,1 0/0	937	165	17,1 0/0	
Mai 1916	41 17,1 0/0	32 13,1 0/0	171 69,8 0/0	877	245	27,9 0/0	A. Lebœuf, P. Braun.
Juin 1916	44 22.6 0/0	40 20,6 0/0	110 56,8 0/0	803	194	24.1 0/0	
	386	552	2.881	12.028	3.819		

Le paratyphique B, en très faible proportion au début (5 fois sur 98 hémocultures positives, soit 9.6 p. 100), augmente rapidement pour atteindre un pourcentage de 30 p. 100 en mai 1915: il reste alors à peu près stationnaire en juin, juillet, août et septembre, puis en octobre une baisse s'accuse (19,8 p. 100) et se précise brutalement en novembre (36 paratyphiques B sur 632 hémocultures, soit 5,69 p. 100); il demeure ensuite à peu près de niveau en décembre, janvier, février et mars, pour remonter en avril et mai, et arriver à 20,6 p. 100 en juin 1916.

Quant au paratyphique A, il semble inconnu en novembre, décembre 1914, janvier et février 1915; nous manquons de renseignements précis sur mars 1915; en avril 1915 P. Braun et J. Bounafous relèvent sa présence; sa proportion, de 4,65 p. 100 en mai 1915 (le chiffre de 20,6 p. 100 pour avril 1915 devant être considéré comme erratique et dû au petit nombre d'hémocultures pratiquées), s'accroît très vite, atteint 92 p. 100 en novembre 1915 et se maintient à peu près à ce taux jusqu'en mars 1916, époque à laquelle s'affirme une diminution qui le conduit à 56,8 p. 100 en juin 1916.

Si nous cessons de considérer les pourcentages pour avoir en vue les chiffres absolus (et nous pouvons le faire à partir d'octobre 1915, l'hémoculture étant dès lors systématiquement pratiquée), nous notons les faits suivants. Le bacille d'Eberth, isolé 22 fois en octobre 1915 sur 1.372 hémocultures, ne l'est plus que 12 fois en novembre et 5 fois en décembre sur 1.414 ensemencements de sang; puis il se met à augmenter progressivement de fréquence et se rencontre 44 fois sur 803 hémocultures en juin 1916. Le paratyphique B, observé 113 fois sur 1.372 hémocultures en octobre 1915, subit une chute brusque en novembre (36 isolements), diminue régulièrement jusqu'au mois de mars 1916 (7 isolements), puis remonte en avril et mai, et se trouve 40 fois sur 803 hémocultures en juin 1916. En ce qui concerne le paratyphique A, noté 429 fois sur 1.372 hémocultures en octobre 1916, il est isolé 584 fois en novembre sur 1.365 hémocultures pour ne l'être plus que 110 fois sur 803 hémocultures en juin 1916, après avoir passé par un minimum de 64 isolements sur 1.028 hémocultures en mars 1916.

Nous avons pratiqué un nombre considérable de séro-diagnostics sur des sérums provenant de sujets dont les hémocultures étaient négatives, et qui cependant se trouvaient cliniquement en puissance d'état typhoïde : les pourcentages ainsi obtenus se sont, à peu de chose près, montrés les mêmes que ceux donnés par les hémocultures; la différence a porté sur les paratyphiques B qui se sont montrés un peu plus nombreux (il nous semble que ce soit le paratyphique B qui ait la phase d'infection sanguine la plus courte, la plus difficile à saisir).

Comment peut-on essayer d'expliquer les diverses variations que nous venons de passer en revue? Le bacille d'Eberth, avons-nous constaté, presque seul pendant l'hiver 1914-1915, tombe à 1,1 p. 100 en décembre 1915; l'énoncé de cette simple proposition nous permet d'écarter d'emblée la seule action d'une influence saisonnière qui, sans doute, s'est manifestée au cours de l'hiver 1915-1916, mais n'a joué en fait qu'un rôle très restreint. Le gros facteur de cette quasi-disparition a été la pratique largement répandue de la vaccination antityphique, le nombre des sujets *entièrement et régulièrement vaccinés* s'accroissant à mesure que le nombre des cas à bacilles typhiques diminuait. Et c'est ainsi qu'en novembre et décembre nous n'observions *pas un seul sujet régulièrement vacciné* sur les typhiques isolés, ainsi que le montrent nettement les tableaux II et III ci-dessous.

Tableau II (*novembre 1915*). — B. TYPHIQUE.

NUMÉROS D'HÉMOCULTURE	NOMS ET PRÉNOMS	VACCINATIONS
2.669	C... (Jean-Marie)	x.
2.741	J... (Arsène)	3, les 5, 11 et 18 mars 1915.
2.763	D... (Henry).	2, en octobre.
3.140	T... (Auguste).	2, en ?
3.314	P... (Henri)	Néant.
3.347	B... (Victor).	2, en ?
3.366	L... (Henri)	5, douteuses.
3.596	C... (Armand).	3, en décembre 1914.
3.843	M... (Adolphe)	Néant.
3.959	J... (Alexis)	2, en septembre 1914.
3.961	G... (Antoine).	Néant.
3.969	J... (Charles)	Néant.

Tableau III (*décembre 1915*). — B. TYPHIQUE.

NUMÉROS D'HÉMOCULTURE	NOMS ET PRÉNOMS	VACCINATIONS
4.371	P... (Georges)	5, douteuses.
4.386	E... (Maurice).	2, en *x*.
4.408	C... (Louis).	Néant.
4.599	M... (Alexis)	1, en novembre 1915.
5.022	B... (Armand).	3, en *x*.

Donc, en décembre 1915, la vaccination antiéberthienne paraît toute-puissante; mais, en 1916, le nombre des cas de typhoïde se met à augmenter régulièrement jusqu'en juin (époque de nos dernières observations). Le balancement saisonnier n'a évidemment pas été étranger à cette augmentation, mais, pour que son action ait pu se faire sentir, il a certainement fallu se trouver en présence de sujets dont l'état d'immunisation était insuffisant. Pour nous en rendre compte, nous avons fait le relevé des vaccinations des cas à bacille typhique observés; nous donnerons seulement ici les relevés de mai et juin 1916 (tableaux IV et V). Leur examen nous montre qu'à part les sujets n°s 9983, 10242, 10277, 10712, 10770 (soit 5 exceptions sur 85 isolements), il s'agissait de malades ou bien non vaccinés, ou bien insuffisamment vaccinés, ou bien ayant reçu leurs quatre vaccinations antiéberthiennes depuis plus d'un an (ces derniers, d'ailleurs, en assez petit nombre). Il paraît donc que, sur un chiffre *très restreint* d'organismes fortement débilités par les fatigues de la campagne, l'immunisation résultant de la vaccination antiéberthienne faiblisse au bout d'environ une année.

Plus délicate à résoudre en apparence, la question du développement de l'épidémie des paratyphoïdes et surtout de la paratyphoïde A nous paraît en réalité aisée à comprendre, si l'on s'en rapporte simplement aux faits précis, et si l'on consent à ne pas s'aventurer dans des théories sans bases sérieuses. Nous avons entendu bien des fois avancer que la manifestation presque explosive de paratyphoïdes A était le *résultat de la vaccination antiéberthienne*. Or, pour nos mois les plus chargés

Tableau IV. — Vaccinations des cas a B. typhiques, *de mai* 1916.

NUMÉROS D'HÉMOCULTURE	NOMS ET PRÉNOMS	VACCINATIONS
9.912	J... (Jean). . . .	Néant.
9.916	A... (Joseph) . .	4 T, en 1913, — 3 AB, en février 1916.
9.930	B... (Jules) . . .	Néant.
9.970	G... (Victor). . .	3 T, en mars 1915.
9.983	T... (Georges) .	4 T, en juillet 1915.
9.998	D... (Albert) . .	4 T, en février 1915.
10.056	M... (Antoine). .	4 T, en mars 1915.
10.071	B... (Hébert) . .	4 T, en mars 1915.
10.074	G... (Eugène) . .	4 T, en 1914, — 3 AB, en 1916.
10.104	B... (Jean) . . .	2 T, en mars 1915.
10.134	P... (Antoine) . .	4 T, en mars 1915.
10.139	F... (Fleury) . .	3 T, en 1913, — 1 TAB, en janvier 1916.
10.161	J... (Victor). . .	4 T, en mars 1915.
10.207	M... (Georges) .	2 T, en février 1915.
10.223	B... (Joseph) . .	3 T, en octobre 1914.
10.239	L... (Gabriel) . .	2 T, en décembre 1914.
10.242	M... (Marcel) . .	4 TAB, en janvier 1916.
10.246	M... (Constant) .	4 T, en 1914.
10.248	D... (Henri). . .	2 T, en septembre 1915.
10.271	D... (Joseph) . .	Néant.
10.277	A... (François) .	4 T, en 1914, — 4 TAB, en déc. 1915.
10.288	P... (François) .	3 T, en mars 1915.
10.205	L... (Victor) . .	Néant.
10.299	C... (Dominique).	3 T. en 1914.
10.316	S... (Eugène) . .	4 T, en février 1915.
10.362	L... (Edmond). .	Néant.
10.386	C... (Renaud) . .	4 T, en avril 1915.
10.444	D... (Louis) . .	4 T, en février 1915.
10.470	M... (Henri). . .	1 T, en octobre 1915.
10.477	L... (Jean) . . .	3 AB, en janvier 1916.
10.562	B... (François) .	3 T, en 1914.
10.566	D... (Clément) .	2 T, en avril 1915 — 3 AB (28 déc. 1915-17-31 janvier 1916).
10.630	Colonel... . . .	Néant.
10.638	T... (Gaston) . .	3 AB, en mars 1916.
10.694	R... (Jean) . . .	Néant.
10.703	B... (Jean) . . .	4 T, en mars 1915.
10.710	L... (Blaise) . .	3 T, en sept. 1915. 3 AB, en mars 1916.
10.712	S... (Mathieu). .	4 T, en juil. 1915, — 2 AB, en janv. 1916.
10.761	C... (Désiré) . .	4 T, en 1915.

en paratyphique A, c'est-à-dire pour novembre et décembre 1915, nous avons établi le dossier vaccinal antiéberthien des malades présentant une paratyphoïde A et voici ce que nous avons observé :

Novembre 1915. — 59 paratyphoïdiques A sur 584 n'ont subi aucune vaccination antiéberthienne, soit environ 1/10.

Décembre 1915. — 47 paratyphoïdiques A sur 453 n'ont subi aucune vaccination, soit encore environ 1/10.

Tableau V. — Vaccinations des cas a B. typhiques, *de juin* 1916.

NUMÉROS D'HÉMOCULTURE	NOMS ET PRÉNOMS	VACCINATIONS
10.770	L...(Adolphe)	4 T, en 1915, — 4 TAB, en 1916.
10.785	P... (Georges). . . .	4 T, en mars 1915, — 3 AB, en février 1916.
10.832	A... (Jules)	Néant.
10.833	B... (Pierre).	3 T, en mai 1915.
10.851	D... (Henri)	3 T, en décembre 1914.
10.879	B... (Claudius) . . .	2 T, en mai 1915.
10.956	D... (François) . . .	3 T, en 1914.
10.959	M... (Paul).	Néant.
10.965	B... (Emile).	4 T, en janvier 1915.
10.973	T... (Eugène)	Néant.
10.981	M... André)	Néant.
11.004	A... (Georges). . . .	1 T, en 1914.
11.024	B... (Noël)	3 T, en août 1915.
11.064	T... (Emile)	Néant.
11.088	L... (Antoine)	Néant.
11.107	B... (Jean).	Néant.
11.113	B... (Henri)	4 T, en septembre 1912.
11.188	N... Pierre).	1 T, en juin 1915.
11.222	P... (Pierre).	4 T, en 1914.
11.228	R... (Paul)	2 T, en août 1915.
11.227	D... (Pierre)	4 T, en avril 1915.
11.263	V... (Auguste). . . .	2 T, en 1914.
11.266	M... (Léonard) . . .	Néant.
11.284	J... (Alphonse) . . .	2 T, en décembre 1914.
11.273	P... (Anthème) . . .	3 T. en janvier 1915.
11.297	C... (Ismaël)	3 T, en octobre 1914.
11.308	D .. (Jean-Baptiste).	3 AB, en février 1916.
11.309	B... (Jean-Baptiste).	4 T. en 1914, — 1 AB, en janvier 1916.
11.305	C... (Auguste). . . .	1 T, en janvier 1915.
11.306	D... (Gabriel)	2 T, en 1914.
11.313	A... (Alfred).	2 T, en février 1915.
11.351	P... (Augustin) . . .	3 T, en mai 1915.
11.352	P... (Paul).	5 T, en février 1915?
11.365	L... (Marcel)	3 T, en janvier 1915.
11.380	A... (Philippe). . . .	4 T, en décembre 1914. — 2 T, en février 1915.
11.386	M... (François) . . .	2 T, en janvier 1915.
11.396	N... (Charles)	4 T, en avril 1915, — 3 AB, en novembre 1915.
11.436	M... (Auguste)) . . .	3 T, en mars 1915, — 3 AB, en mars 1916.
11.448	C... (Georges). . . .	2 T, en juin 1915.
11.458	V... (Marcel)	4 T, en février 1915, — 3 AB, en 1916.
11.466	F... (Léon)	Néant.
11.486	N... (François) . . .	4 T, en 1914, — 2 T, en mars 1915.
11.507	F... (Henri)	3 T, en décembre 1914, — 2 AB, en février 1916.
11.512	D... (Jean)	4 T, en février 1916. — 1 AB, en 1916.

Or cette proportion de 1/10 de sujets n'ayant reçu aucune injection antiéberthienne était celle que l'on notait également à cette époque chez les sujets atteints d'affections quelconques.

Les mêmes faits s'observaient pour les paratyphoïdes B. La conclusion s'imposait formelle : la prédominance des paratyphoïdes et surtout de la paratyphoïde A n'était pas spéciale aux malades ayant reçu des injections de vaccin antiéberthien.

Les choses doivent, selon nous, se comprendre de la façon suivante : les paratyphoïdes et surtout la paratyphoïde A ont pu prendre un semblable développement grâce aux conditions épidémiologiques de divers ordres créées par la campagne actuelle; il se passe là un fait exactement du même ordre que celui qui se produit pour l'extension de la dysenterie amibienne autochtone, laquelle était plus qu'une rareté avant la guerre. La vaccination antiéberthienne n'exerce aucune action immunisante contre les paratyphoïdes, mais n'en détermine pas davantage le développement; sans la vaccination antityphoïdique cette poussée de paratyphoïdes se serait également produite, mais, en raison du peu de gravité qu'affectent, en général, les paratyphoïdes A, aurait été en partie masquée par les manifestations d'une formidable épidémie de fièvre typhoïde qui avait si bien débuté en 1914 et a été heureusement coupée dans la racine. Nous partageons entièrement à cet égard l'avis de Rimbaud (1).

Ceci posé, voyons quelle a pu être l'influence des vaccinations antiparatyphiques sur la marche des infections paratyphoïdes. Dans la région où nous opérions nos examens, ces vaccinations ont été commencées en décembre 1915, mais avec une marche assez lente, et ce n'est que vers le mois de mars 1916 que nous avons commencé à rencontrer un nombre intéressant de sujets ayant reçu leurs 3 AB ou leurs 4 TAB. Or, l'examen du tableau I montre que la diminution des paratyphoïdes a commencé avant que l'influence de la vaccination antiparatyphique ait pu commencer à se faire sentir (en octobre 1915, 113 paratyphiques B et 429 paratyphiques A sur 1.372 hémocultures, et en février 1916, 10 paratyphiques B et 148 paratyphiques A sur 986 hémocultures); il convient, croyons-nous, de rapporter cette baisse à l'action des mois d'hiver. Au printemps les paratyphoïdes ont de nouveau tendance à augmenter

(1) Rimbaud, *Presse médicale*, 11 novembre 1915.

de nombre, mais d'une façon relativement faible et c'est là, sans doute, que commence à se dessiner le rôle heureux de la vaccination antiparatyphique. Nous avons dressé pour les mois d'avril et mai les tableaux des paratyphoïdiques A et B d'après leurs vaccinations; nous les reproduisons ci-dessous.

Mois d'avril 1916.

BACILLE ISOLÉ	PAS DE VACCINATION ANTI-PARATYPHOIDIQUE	VACCIN TAB			VACCIN AB	
		1-2 vaccinat.	3 vaccinat.	4 vaccinat.	1-2 vaccinat.	3 vaccinat.
Paratyphique A.	87	0	2	6	8	6
Paratyphique B.	18	2	0	0	1	1

Mois de mai 1916.

BACILLE ISOLÉ	PAS DE VACCINATION ANTI-PARATYPHOIDIQUE	VACCIN TAB			VACCIN AB	
		1-2 vaccinat.	3 vaccinat.	4 vaccinat.	1-2 vaccinat	3 vaccinat.
Paratyphique A.	131	2	6	4	16	12
Paratyphique B.	18	3	1	3	3	4

soit au total pour les deux mois :

BACILLE ISOLÉ	PAS DE VACCINATION ANTIPARATYPHOIDIQUE	VACCINATION ANTIPARATYPHOIDIQUE incomplète	VACCINATION ANTIPARATYPHOIDIQUE complète
Paratyphique A.	218	34	28
Paratyphique B	36	10	8

Ces chiffres montrent que, si la vaccination antiparatyphoïdique ne confère pas une immunité absolue, elle n'en a pas

moins une influence certaine et doit être poursuivie avec persévérance. Enfin, les faits que nous avons relatés ci-dessus, relatifs à la baisse d'immunisation procurée par la vaccination anti-éberthienne, posent l'indication qu'à l'avenir toutes les vaccinations devront se faire avec du vaccin mixte complet TAB, même chez les sujets ayant été vaccinés complètement au vaccin anti-éberthien.

Distribution géographique. — Nous avons vainement cherché à établir qu'une loi quelconque pût présider à la distribution géographique de l'épidémie ou des différentes espèces bacillaires observées. La formule de Sacquépée, Brunet et Weissenbach (1) : — bacille d'Eberth le long des cours d'eau, paratyphiques sur les hauteurs —, s'est trouvée complètement en défaut dans la zone d'où provenaient les malades dont nous avions à pratiquer l'hémoculture : cette conclusion concorde avec les observations faites par Dévé (2), Leger, Abt et Dumont (3) dans d'autres zones.

Associations de bacilles du groupe typhoïdique. — La présence simultanée de deux bacilles du groupe typhoïdique chez le même malade ne nous a pas semblé être d'une grande fréquence, du moins en ce qui concerne la constatation directe d'espèces microbiennes différentes. Il est vrai que le travail considérable que nous avions à fournir par ailleurs ne nous a pas permis de diriger des recherches systématiques en ce sens et que nous avons dû nous contenter de ce que le hasard des examens pouvait nous mettre sous les yeux. Une fois nous avons isolé dans le sang d'un malade du paratyphique A et du paratyphique B, qui ont également été retrouvés dans les selles par la coproculture. Nos ensemencements d'autopsie nous ont fait, dans 5 cas, déceler dans la bile du cadavre un bacille du groupe typhoïdique différent de celui qui avait été isolé dans le sang du malade. Il est probable que ces associations sont plus nombreuses : elles doivent expliquer les agglutinations complexes ou même para-

(1) Sacquépée, Burnet et Weissenbach, *Réunion méd.*, IVe armée, 13 août 1915.
(2) Dévé, Ve armée, 13 septembre 1915.
(3) Leger, Abt et Dumont, Ve armée, 13 septembre 1915.

doxales que nous avons observées chez un certain nombre de nos typhoïdiques.

Espèces aberrantes. — Nous nous sommes préoccupés de la question des espèces aberrantes (cocci, bacilles prenant le Gram) signalées par divers auteurs dans le sang de leurs malades : Sacquépée et Lenglet (1), Sacquépée, Burnet et Weissenbach (2), Sartory et Ph. Lasseur (3), R. Bénard (4), Lebrun et Portier (5), H. Bourges, R. Lancelin et P.-R. Joly (6).

Nous n'avons jamais rencontré le bacille Gram-positif signalé par R. Bénard; nous basant sur nos 12.000 prises de sang, nous croyons pouvoir affirmer que tout bacille prenant le Gram trouvé dans le tube à hémoculture provient d'une contamination ou de la stérilisation insuffisante des récipients, instruments ou milieux.

Quant au cocci prenant le Gram (tétragène, *Micrococcus paratyphoideus*, etc.), il nous est arrivé d'en rencontrer, mais toujours en proportion infime, sauf dans une occasion dont nous allons reparler. Jusqu'à preuve formelle du contraire, nous pensons qu'il s'agit dans ces cas d'une contamination due à la traversée par l'aiguille des glandes cutanées (si riches en cocci et dont la stérilisation complète est chose délicate) et cela pour les raisons suivantes :

1° Nous n'avons pas pu obtenir de cocci lors de secondes hémocultures faites en redoublant de précautions antiseptiques; dans l'hypothèse des cocci sanguicoles, il faudrait donc admettre une phase d'infection sanguine extrêmement courte.

2° Pensant que l'emploi de la bile comme milieu d'hémoculture s'opposait peut-être à la multiplication de ces germes, nous avons fait *simultanément* plusieurs centaines d'hémocultures, soit en bile et en bouillon, soit en bile et en urine, en ensemençant du sang provenant *de la même ponction et de la même seringue*. Les résultats furent comparables à quelques unités près avec les différents milieux.

(1) Sacquépée et Lenglet, IV[e] armée, 4 juin 1915.
(2) Sacquépée, Burnet et Weissenbach, IV[e] armée, 13 août 1915.
(3) Sartory et Ph. Lasseur, *Acad. de Médec.*, 14 septembre 1915.
(4) R. Bénard, IV[e] armée, 13 août 1915.
(5) Lebrun et Portier, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 24 juillet 1915.
(6) H. Bourges, R. Lancelin et P.-R. Joly, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 4 décembre 1915.

3° Nous n'avons pu obtenir d'agglutination nette de ces cocci par le sérum des malades correspondants et cela même en opérant à des taux extrêmement bas (1/20).

4° Nous rapporterons enfin un fait qui nous paraît un argument sérieux contre l'hypothèse de ces coccihémies. Au mois de septembre 1915, les cocci, que nous rencontrions dans nos tubes à peine dans la proportion de 1/100, augmentèrent brusquement de nombre d'un jour à l'autre. Nous fîmes une enquête en reprenant minutieusement toutes les parties constituantes de l'opération de la prise de sang, depuis la stérilisation à l'autoclave de la seringue et de l'aiguille, jusqu'à l'ensemencement du sang dans le tube à hémoculture, et en vérifiant le matériel et les milieux employés, nous constatâmes qu'un de nos aides avait dédoublé la teinture d'iode (que nous employions « larga manu » pour la stérilisation de la peau) : nous fîmes rétablir l'antiseptique à son taux primitif et l'afflux coccien disparut aussitôt.

Dans ces conditions, l'existence d'états typhoïdes dus à la présence dans le sang périphérique de cocci prenant le Gram, nous apparaît comme très douteuse ou tout au plus excessivement rare.

Enfin, nous croyons bon de faire remarquer ici que nous avons toujours pu faire rentrer les bacilles du groupe typhoïdique que nous isolions, dans un des trois grands cadres : typhique — paratyphique A — paratyphique B. Que des différences minimes puissent s'observer parfois, surtout en ce qui concerne les paratyphiques, nous ne le contestons pas, mais elles ne nous paraissent pas suffisantes pour constituer des espèces nouvelles à proprement parler.

Valeur actuelle des séro-diagnostics typhique et paratyphiques.

L'hémoculture n'est pas une méthode permettant d'établir dans tous les cas le diagnostic d'une infection typhoïde ; si elle reste le seul procédé capable de donner des résultats dans les premiers jours de la maladie, il n'en est pas moins vrai que, d'une part, bien des malades n'arrivent à portée d'un laboratoire outillé qu'à une période de leur affection où la phase

d'infection sanguine a cessé et que, d'autre part, il y a des sujets chez lesquels cette phase d'infection sanguine est tellement courte que, pratiquement, elle n'existe pas (notamment, croyons-nous, chez les vaccinés). Or, il y a toujours intérêt à poser le diagnostic exact de la maladie, que ce soit au cours de l'affection, ou même pendant la convalescence : l'hémoculture étant restée négative, le séro-diagnostic reste pratiquement le seul procédé auquel on puisse recourir (nous disons pratiquement, car on peut évidemment utiliser aussi la coproculture, mais seulement lorsque l'on a à pratiquer un nombre limité d'analyses).

Depuis l'introduction de la vaccination antityphique, la valeur de cette méthode de diagnostic a été sérieusement discutée. F. Dévé (1), L. Bernard et G. Paraf (2) estiment que le séro-diagnostic n'a pas de valeur pour le diagnostic différenciel des formes typhique et paratyphique, surtout chez les sujets vaccinés et que l'hémoculture permet seule la différenciation; par contre Vaucher (3), Orticoni (4), P. Courmont, Chattot et Pierret (5), A. Cade et E. Vaucher (6), Am. Coyon et A. Lemierre (7) estiment qu'employés dans certaines conditions les séro-diagnostics typhique et paratyphiques peuvent donner de très utiles renseignements.

Nous avons pratiqué un nombre considérable d'agglutinations : 1° de contrôle, chez des sujets dont l'hémoculture était positive; 2° de diagnostic, chez des malades à hémoculture négative et pouvant néanmoins être soupçonnés de se trouver en puissance d'état typhoïde, et nous en avons tiré un certain nombre de conclusions pratiques que nous allons rapidement énumérer.

1° *Sujets n'ayant reçu aucune injection vaccinante.* — Une agglutination supérieure à 1/100 pour l'Eberth, à 1/200 pour le paratyphique B, à 1/50 pour le paratyphique A (nous indi-

(1) F. Dévé, Ve armée, 13 septembre 1915.
(2) L. Bernard et G. Paraf, *Presse Médicale*, 2 septembre 1915.
(1) Vaucher, Xe armée, 9 septembre 1915.
(2) Orticoni, Xe armée, 9 septembre 1915.
(3) P. Courmont, Chattot et Pierret, *Soc. méd. des Hôp.*, 9 juin 1916.
(4) A. Cade et E. Vaucher, *Presse Médicale*, 3 juillet 1916.
(5) Am. Coyon et A. Lemierre, *Soc. méd. des Hôp.*, 21 juillet 1916.

querons plus loin les raisons de cette différence de taux suivant le microbe envisagé) permet d'affirmer que l'on se trouve en présence d'une infection du groupe typhoïdique. En augmentant les dilutions et en cherchant les taux limites, on arrive aisément à éliminer les coagglutinations qui se font toujours à un taux bien inférieur à l'agglutination du bacille infectant (conclusion résultant de l'étude de nos agglutinations de contrôle) et à poser le diagnostic de l'espèce microbienne en cause. Si l'on arrive à des taux limites voisins ou présentant un écart insuffisant (compte tenu de la différence d'agglutinabilité des microbes, — v. plus loin), il y a lieu de soupçonner une infection mixte. Enfin nos agglutinations de contrôle nous ont parfois mis en présence d'agglutinations paradoxales, le taux le plus élevé étant fourni par un bacille autre que celui donné par l'hémoculture : il y a lieu alors de soupçonner ou bien une infection mixte ou bien des infections successives (réascension des courbes de température après une période plus ou moins marquée d'apyrexie).

2° *Sujets ayant reçu des injections de vaccin anti-éberthien.* — Chez ces malades, le diagnostic de fièvre à bacille d'Eberth ne pourra être posé que si l'on se trouve en présence d'une agglutination supérieure à 1/500. Pour les paratyphiques, à condition d'atteindre ou de dépasser le 1/200 pour le paratyphique B et le 1/50 pour le paratyphique A, les conclusions restent les mêmes que dans le cas précédent.

3° *Sujets ayant reçu des injections préventives anti-éberthiennes et antiparatyphiques.* — Les résultats que nous avons obtenus sont très contradictoires et cela tient, selon nous, à deux causes : la première est que nous n'avons eu à étudier que des sujets ayant reçu depuis peu de temps (trois mois au maximum) leurs dernières injections immunisantes ; la seconde est qu'il existe des variations individuelles considérables dans les réactions humorales consécutives aux injections de vaccins mixtes ; nous avons vu des agglutinations supérieures à 1/1.000 succéder à une seule injection de vaccin mixte, comme aussi nous avons constaté des agglutinations de 1/200 au paratyphique B et à peine sensibles au paratyphique A chez des individus ayant reçu leur série vaccinale complète.

4° *Comparaison entre les agglutinations du typhique, du paratyphique B et du paratyphique A.* — Nous avons observé qu'il y avait entre ces trois bacilles, au triple point de vue de la morphologie de l'agglutination, de son taux et de sa vitesse, des différences dont il y avait lieu de tenir compte dans la pratique.

a) *Bacille d'Eberth.* — Bien étudiée depuis longtemps au point de vue de la vitesse et du taux, l'agglutination de ce bacille peut être prise comme unité de comparaison par rapport à celles du paratyphique B et du paratyphique A. Morphologiquement, on peut dire que c'est une agglutination *broussailleuse*; les bacilles se trouvent intimement enchevêtrés, mais de façon toutefois à pouvoir être assez bien distingués : l'aspect des amas peut être comparé à celui des paquets broussailleux de bacilles diphtériques sur préparations colorées.

b) *Paratyphique B.* — Agglutination massive, brutale, se produisant rapidement et à des taux en général *très élevés* (a presque toujours été rencontrée à un taux décisif dans nos agglutinations de contrôle chez nos malades présentant du paratyphique B à l'hémoculture). Au point de vue morphologique, c'est une agglutination *en bloc*; les amas sont compacts, quasi homogènes; il est impossible, ou à peu près impossible, de distinguer les bacilles constituants.

c) *Paratyphique A.* — Chez les sujets ayant présenté du paratyphique A à l'hémoculture, quelques sérums n'ont pu agglutiner nos souches. Il résulte de cette constatation que, en cas d'hémoculture négative, l'absence d'agglutination du paratyphique A par le sérum du malade ne permet pas de nier l'existence d'une paratyphoïde A.

Fréquemment, l'agglutination est *très lente* à se produire (une heure, deux heures même); elle a lieu généralement à un taux *peu élevé*. Morphologiquement, c'est une agglutination *nuageuse* : les microbes formant les amas restent distincts les uns des autres, chacun d'eux se trouvant entouré d'une sorte de halo.

C'est par la comparaison méthodique de ces divers modes agglutinatifs que nous avons été amenés à admettre les taux que nous avons indiqués ci-dessus. Nous croyons bon d'insister

une fois de plus sur cette règle, d'ailleurs bien connue en matière de séro-diagnostic, de n'employer que des souches d'agglutinabilité éprouvée et cela surtout en ce qui concerne le paratyphique A.

* * *

D'une façon très générale, nous conclurons que :

1° Au cours de la guerre actuelle, le paratyphique A a pris une extension considérable qui nous semble due aux conditions épidémiologiques spéciales résultant de cette campagne.

2° Les vaccinations antityphiques et antiparatyphiques rendent d'utiles services et doivent être poursuivies avec persévérance.

3° L'existence d'états typhoïdes dus à des cocci prenant le Gram nous paraît très douteuse ou tout au plus extrêmement rare.

4° Le séro-diagnostic, pratiqué dans certaines conditions, est de nature à rendre de précieux services pour le diagnostic des fièvres typhoïde et paratyphoïdes.

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

1 2 3 4 5 6 7

8 9 10 11 12 13 14

15 16 17 18 19 20 21

22 23 24 25 26 27 28

29 30 31 32 33

GUILLIERMOND, *del.*

Mitoses dans l'asque du *Schizosaccharomyces octosporus.*

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXXI. — 1917. Avril. — N° 4.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX



PARIS

MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : **18** francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : **20** francs.

SOMMAIRE DU N° 4

BULLETIN

DE LA

Société de Pathologie exotique

Siège de la Société : Institut Pasteur, Paris

Paraît 10 fois par an, 15 jours après chaque séance qui a lieu le 2e mercredi du mois, sauf en août et septembre.

Le volume de 1915, qui atteint 800 pages, avec figures dans le texte et planches hors texte, ne le cède en rien, malgré les circonstances, à ceux des années précédentes.

PRIX DE L'ABONNEMENT :

France : 18 fr. — Union postale : 20 fr.

31e ANNÉE AVRIL 1917 N° 4

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

UNE PROPRIÉTÉ INTÉRESSANTE DES SOLUTIONS VIEILLIES DE FIBRINOGÈNE

par P. NOLF.

Si l'on conserve, à 0°, une solution concentrée de fibrinogène préparée suivant la méthode de Hammarsten, on constate qu'elle conserve pendant un temps variable la propriété de se coaguler après adjonction de sérum en donnant des caillots gélatineux d'aspect tout à fait normal. Pour certaines solutions, la durée de la conservation ne dépasse pas quelques jours. Le plus souvent, elle atteint 3 à 4 semaines. Il semble que plus une solution est concentrée, plus elle a chance de durer longtemps. J'ai constaté, d'autre part, que des solutions dans lesquelles la dissolution du fibrinogène avait été obtenue par addition de 2 à 3 gouttes d'une solution de carbonate sodique pour 100 cent. cubes de solution, pouvaient perdre en quelques jours, à 0°, la propriété d'être coagulées, si l'on omettait de neutraliser l'excès d'alcali aussitôt que la dissolution de fibrinogène s'était opérée.

D'habitude, la perte de la coagulabilité ne survient pas brusquement. Dans les jours qui précèdent, on constate que les cail-

lots se produisent plus péniblement, qu'ils ont une consistance moins ferme, plus visqueuse. Quand elle est devenue complète, la solution reste complètement fluide, si on lui ajoute un sérum frais ou une solution de thrombine.

On peut donner deux explications de ces faits : ou bien le fibrinogène perd progressivement, en vieillissant, son affinité pour la thrombine, ou bien il la conserve, mais sa solution se stabilise (comme celle de beaucoup de colloïdes), de telle sorte que les produits de son union à la thrombine sont des complexes de plus en plus solubles, qui finissent par rester complètement en solution dans l'eau salée isotonique (fibrine soluble).

J'avais, il y a quelques années déjà (1), préféré la seconde explication, qui rend mieux compte de l'observation suivante : quand on réduit en poudre fine, dans un mortier d'agate, soit de la fibrine desséchée, soit le précipité desséché, obtenu en coagulant un sérum par un excès d'alcool, et qu'on met ces poudres en suspension en eau salée isotonique, on obtient un liquide dans lequel la thrombine est en partie dissoute et en partie adhérente aux particules de fibrine. Mélangée à du fibrinogène récent, cette émulsion produit une double coagulation : 1° coagulation du fibrinogène à la surface des particules, ce qui entraîne l'agglutination de celles-ci ; 2° coagulation du fibrinogène par la thrombine dissoute, ce qui produit le caillot gélatineux habituel. Si, au lieu de fibrinogène récent, on emploie le fibrinogène vieilli, on constate que le caillot gélatineux ne se produit pas, tandis que s'opère l'agglutination des particules de fibrine.

Mais, si le fibrinogène vieilli a gardé le pouvoir de s'unir à la thrombine qui adhère aux particules de fibrine, de façon à produire l'agglutination de celle-ci, on doit supposer qu'il n'a pas perdu toute affinité pour la thrombine dissoute. La non-apparition du caillot gélatineux ne prouve pas que thrombine dissoute et fibrinogène vieilli ne se sont pas réellement unis.

Pour s'assurer de l'existence de cette union, il existait un moyen : si l'union est réelle, elle doit s'accompagner d'une

(1) P. Nolf, Contribution à l'étude de la coagulation du sang. *Arch. internat. de Physiologie*, 1908, VI, p. 15.

consommation de thrombine; on doit donc s'attendre à voir le fibrinogène vieilli exercer une action anticoagulante sur un milieu coagulable auquel on le mélange.

L'expérience réalisée a donné un résultat tout à fait positif. En voici un exemple :

SOLUTION concentrée de FIBRINOGÈNE ayant séjourné 6 semaines à 0°.	SOLUTION isotonique de CHLORURE SODIQUE	SOLUTION de CHLORURE CALCIQUE à 1,1 p. 100.	PLASMA OXALATÉ de chien	RÉSULTATS
	1,6 c.c.	0,05 c.c.	0,4 c.c.	Caillot après 37 minutes.
	1,8 c.c.	0,05 c.c.	0,2 c.c.	Caillot après 22 minutes.
	1,9 c.c.	0,05 c.c.	0,1 c.c.	Caillot après 22 minutes.
1,6 c.c.		0,05 c.c.	0,4 c.c.	Caillot après 2 heures.
1,8 c.c.		0,05 c.c.	0,2 c.c.	Fluide le lendemain et le surlendemain.
1,9 c.c.		0,05 c.c.	0,1 c.c.	Fluide le lendemain et le surlendemain.

Le pouvoir anticoagulant des solutions est relativement faible. Pour le mettre en évidence, il faut, comme dans l'expérience précédente, employer une solution concentrée de fibrinogène et ne lui ajouter que de faibles quantités du liquide coagulable. C'est dans ces conditions seulement que le pouvoir anticoagulant se marque nettement. Si la proportion du liquide coagulable ajouté à la solution de fibrinogène est progressivement augmentée ou si la concentration du fibrinogène est diminuée, le retard de coagulation s'atténue rapidement; aux concentrations intermédiaires, le caillot apparaît dans la solution de fibrinogène vieilli avec peu de retard sur le caillot témoin en eau salée isotonique, mais il est moins consistant que lui.

Le pouvoir anticoagulant de ces solutions vieillies de fibrinogène ne peut être attribué ni à une salinité trop forte, ni à une alcalinité exagérée, comme le prouvent et l'examen direct et le fait que ces solutions se coagulaient elles-mêmes quelques jours avant de devenir anticoagulantes. Ce n'est pas non plus

la putréfaction qui a engendré des substances anticoagulantes. A la température de 0°, les solutions de fibrinogène sont imputrescibles. Il m'est arrivé d'en conserver pendant trois mois en vase ouvert, dans la glace fondante, sans que le moindre trouble, la moindre odeur indiquât l'existence d'une pullulation microbienne. Ce fait est d'autant plus remarquable, que l'on sait que les extraits d'organes subissent assez rapidement la putréfaction dans les mêmes conditions de conservation.

L'observation suivante apporte, d'ailleurs, la preuve que le pouvoir anticoagulant appartient bien au fibrinogène altéré lui-même. Si l'on chauffe ces solutions à 56°, température de coagulation du fibrinogène, elles se troublent comme des solutions de fibrinogène récemment préparé et perdent en même temps leur pouvoir anticoagulant.

En voici un exemple :

SOLUTION de FIBRINOGÈNE conservée à 0° depuis 3 semaines	MÊME SOLUTION chauffée 1/2 heure à 56°	SOLUTION isotonique de CHLORURE SODIQUE	SOLUTION de CHLORURE CALCIQUE à 1.1 p. 100	PLASMA OXALATÉ de chien	RÉSULTATS
1,6 c.c.			0,06 c.c.	0,4 c.c.	Caillot après 8 heures.
1,8 c.c.			0,06 c.c.	0,2 c.c.	Fluide le lendemain et le surlendemain.
	1,6 c.c.		0,06 c.c.	0,4 c.c.	Caillot après 25 minutes.
	1,8 c.c.		0,06 c.c.	0,2 c.c.	Caillot après 35 minutes.
		1,6 c.c.	0,06 c.c.	0,4 c.c.	Caillot après 35 minutes.
		1,8 c c.	0,06 c.c.	0,2 c.c.	Caillot après 45 minutes.

On peut donc considérer comme établi que les solutions de fibrinogène se stabilisent en vieillissant, comme beaucoup de colloïdes, et perdent la propriété de donner avec la thrombine un complexe insoluble, la fibrine. Mais ce fibrinogène stabilisé n'a pas perdu son affinité pour la thrombine. Il se combine à elle et s'oppose, quand il est en concentration suffisante, à ce qu'elle s'unisse à du fibrinogène normal présent.

On savait qu'un plasma conservé aseptiquement *in vitro* à la

température du corps devient rapidement anticoagulant ; on savait aussi que les liquides de transsudat (hydrocèle humain) se modifient lentement dans les cavités où ils se trouvent. Immédiatement après leur formation, les liquides d'hydrocèle contiennent un excédent de facteurs de coagulation et ils sont à ce moment spontanément coagulables *in vitro* ; en devenant anciens, ils se font de plus en plus stables, ce qui est dû à leur enrichissement progressif en substances anticoagulantes. Il est possible que, dans ces liquides aussi, ce soit le fibrinogène vieilli et stabilisé qui constitue en tout ou en partie l'agent anticoagulant. Et cette opinion est corroborée par le fait, facile à démontrer au moins pour le plasma stérile *in vitro*, que le fibrinogène qu'il contient perd sa coagulabilité en même temps que la stabilité du liquide s'accroît.

La notion d'un fibrinogène stabilisé et devenu anticoagulant est intéressante à un autre point de vue. En établissant la transformation d'un facteur de coagulation en un facteur antagoniste, elle permet de comprendre le mécanisme suivant lequel s'exerce la propriété anticoagulante. Or il existe des propriétés anticoagulantes naturelles. Le plasma contient notamment une substance protéique, très abondante dans le plasma de peptone, qui s'oppose énergiquement à la coagulation du plasma. Il est possible que cette substance exerce son action anticoagulante à la façon du fibrinogène vieilli. Et nous voyons ainsi apparaître un air de parenté entre deux substances dont les rôles dans les phénomènes de coagulation sont antagonistes. Cet aspect nouveau des rapports du fibrinogène et de la substance que l'on appelle antithrombine ou antithrombosine hépatique est d'autant plus intéressant que l'une et l'autre sont produites par le foie.

Je m'empresse d'ajouter que l'antithrombosine hépatique est autre chose que le fibrinogène vieilli. Son pouvoir anticoagulant est beaucoup plus intense et n'est pas supprimé par un chauffage à 56°.

Mais on peut supposer que le foie sécrète, non pas une seule substance ayant de l'affinité pour la thrombine, ni même deux, comme le fibrinogène et l'antithrombosine, mais toute une série. Ces substances ont en commun leur affinité pour la thrombine, mais elles diffèrent l'une de l'autre par leur solu-

bilité, leur point de coagulation et probablement par la grosseur de leur molécule. De la molécule la plus grosse, celle du fibrinogène, à la molécule la plus petite, qui est probablement celle de l'antithrombosine, existent peut-être de nombreux intermédiaires. Je serais tenté de ranger dans ce groupe, entre le fibrinogène et l'antithrombosine, la substance qui s'oppose à la fibrinolyse, que j'ai appelée antithrombolysine, et celle qui est l'élément caractéristique du chaînon terminal de l'alexine (*Endstück*).

(Avril 1914.)

RECHERCHES
SUR
LA FLORE BACTÉRIENNE DES PLAIES DE GUERRE

par H. TISSIER,
Médecin-major de 2e classe aux brancardiers de corps 36e C. A.

(DEUXIÈME MÉMOIRE)

Nous avons vu, dans un premier mémoire (1), qu'il existe, en dehors du tétanos, deux sortes de complications septiques des plaies de guerre : les *accidents purulents*, suppurations banales dont nous connaissions la marche et l'évolution, et les *accidents putrides* dont le caractère nous était moins connu.

Les premiers ont une évolution lente, ne menaçant que légèrement et en tout cas lentement, la fonction du membre atteint. On ne les connaît guère dans les formations sanitaires de l'avant qui gardent peu les blessés. Les seconds au contraire évoluent avec une soudaineté particulière, tuant parfois en quelques heures; ce sont les vraies complications des plaies récentes et de beaucoup les plus graves; c'est pourquoi nous les avons d'abord étudiées.

Nous avons fait l'inventaire des germes qui s'y développent. Nous avons vu que tous les désordres étaient le fait des bactéries anaérobies de la putréfaction; mais que dans un tissu vivant, ce genre de microbes ne pouvait que difficilement germer. Il lui faut un tissu préparé, mortifié et l'aide d'aérobies. Nous avons pu suivre l'évolution de toutes ces espèces et voir les bacilles anaérobies germer, se développer rapidement puis disparaître, vers le dixième jour, sous les réactions de défense de l'organisme, quand des débris de projectile ou de vêtement ne contribuaient pas à les conserver dans les tissus.

(1) Ces *Annales*, t. XXX, décembre 1916, p. 681.

Quand les anaérobies ont disparu ou ont perdu leur activité, suppurations banales et anciennes lésions putrides ont mêmes caractères. Ce sont ces caractères que nous nous proposons d'étudier maintenant pour compléter nos recherches sur la flore bactérienne des plaies de guerre. C'est un sujet bien connu, mais qui mérite encore d'attirer l'attention.

I

Au point de vue clinique, on peut diviser ces complications septiques, purulentes, en trois catégories. Dans un premier groupe, il faut placer les plaies ne donnant qu'une sérosité louche, purulente, sans autre accident local et sans aucun retentissement sur l'état général. Dans un deuxième groupe, il faut mettre les *plaies purulentes ordinaires*, avec réactions locales, mais peu ou pas de température; dans le troisième groupe, enfin, les *plaies purulentes fébriles* à réactions locales dont l'évolution est lente, insidieuse, entrecoupée de rechutes violentes.

D'ordinaire, les plaies putrides débarrassées d'anaérobies se comportent comme l'une ou l'autre de ces suppurations, les *formes circonscrites* comme une *plaie séro-purulente*; une *forme envahissante lente*, comme une *plaie purulente ordinaire*; une *forme envahissante rapide*, comme une *plaie purulente fébrile*.

II

Nous retrouverons, dans les plaies anciennes, tous les microbes aérobies que nous avons signalés dans les plaies récentes, en premier lieu tous ces cocci : *Entérocoque*, *Streptocoque*, *Diplococcus griseus non liq.*, dont les fines colonies bleutées, transparentes sur gélose lactosée couchée, sont si difficiles à différencier. Nous croyons qu'il est nécessaire d'insister sur leurs principaux caractères.

L'*Entérocoque* trouble le bouillon uniformément, donnant un dépôt muqueux s'élevant en vrille par agitation. Sur milieu solide, il peut former une nappe bleutée, transparente, à bords nets. Il pousse bien sur gélatine à 20° et sur pomme de terre. Il

coagule le lait en donnant un caillot mou, granuleux. Il attaque vivement tous les sucres, en ayant, comme acidité d'arrêt, 2 à 2,45 p. 1.000 (en SO^4H^2). Il n'hémolyse pas dans les milieux au sang.

Le *Streptocoque* ne trouble jamais le bouillon, mais donne des grumeaux. Sur milieu solide, ses colonies sont séparées, à centre acuminé, à bords crénelés. Il ne pousse pas sur pomme de terre et très mal sur gélatine à 20°. Il coagule le lait en donnant un caillot dur, rétracté latéralement. Il attaque les sucres, sauf la mannite, avec une acidité d'arrêt de 1,47 à 2. En douze heures, il hémolyse dans les bouillons ordinaires au sang.

Le *Diplococcus griseus non liq.* trouble légèrement le bouillon en donnant de très fins grumeaux. Sur gélose, ses colonies sont séparées, à bords nets légèrement relevés. Il ne pousse pas sur pomme de terre et peu sur gélatine à 20°. Il ne coagule pas le lait. De tous les sucres, il n'attaque que le glucose et fort peu, avec une acidité d'arrêt inférieure à 1. Il ne donne jamais d'hémolyse dans les milieux au sang.

Ainsi trois milieux usuels nous permettront de différencier ces trois espèces : le bouillon ordinaire, le bouillon au sang et le lait.

On trouve également, dans la sérosité ou dans le pus de ces plaies, du *Staphylocoque* blanc ou jaune et, un peu plus rarement, des *Sarcines* et le *M. candidus*. Nous avons réuni sous ce nom deux sortes de *cocci*, donnant des cultures identiques, dont l'un n'attaque pas le lactose, mais tous les autres sucres, et l'autre, tous les sucres sans exception. Leur acidité d'arrêt est la même : 1,47.

Nous avons trouvé, en outre, dans presque toutes les suppurations anciennes, le *B. cutis communis* se présentant, tantôt sous l'aspect d'un pseudo-diphtérique, tantôt sous celui d'un très petit bacille. Ces deux variétés ont même action chimique : attaque du glucose, lévulose, saccharose, avec une acidité d'arrêt de 1,47 à 2 ; mais aucune action sur le lactose, galactose, maltose et mannite.

Citons encore le *B. proteus vulgaris*, le *Fluorescent vert*, ferment mixte protéolytique, et le *B. pyocyanique*, ferment simple protéolytique. Cette dernière espèce, tout comme le

B. proteus, fait disparaître la réaction du biuret des milieux peptonés. Il est sans action sur les sucres, sauf sur le glucose, avec lequel il ne donne qu'une faible acidité, incapable, en tout cas, d'arrêter sa diastase protéolytique. Nous avons rencontré une variété noire de cette bactérie, puis une autre donnant un beau pigment rubis; cette dernière ne détruisait pas complètement les corps biurétiques contenus dans les milieux. Ajoutons que ce bacille est pathogène pour les animaux de laboratoire. Il tue le cobaye, par septicémie, en quarante-huit heures, à la dose de 2 cent. cubes. On retrouve le microbe dans le sang du cœur et dans la bile.

Il peut enfin exister, dans le tissu cicatriciel d'une vieille plaie de guerre, enclavées dans la coque enfermant un corps étranger, des bactéries anaérobies à l'état de spores. Le fait a déjà été signalé par plusieurs observateurs.

III

Quel est maintenant le mode de groupement de ces aérobies dans les diverses suppurations ?

Dans les *plaies séro-purulentes*, on trouve des microbes venant de la peau : *Entérocoque*, *Diplococcus griseus*, quelques échantillons de l'une ou l'autre variété de *M. Candidus*, *le B. cutis communis*. Si la blessure est bien protégée contre les infections secondaires, si, pour plus de précaution, les lèvres en sont maintenues accolées par des bandelettes adhésives, on peut espérer conserver une flore bactérienne assez pauvre; mais dans la pratique de guerre il est difficile d'arriver à ce résultat.

Dans les *plaies purulentes* ordinaires, on trouve toujours, associé à un ou plusieurs des *cocci* précédents, du *Staphylocoque*.

En général, les bactéries apparaissent, comme nous l'avons déjà vu, vers la dixième heure après la blessure. Elles semblent en nombre égal. L'*Entérocoque* paraît se développer plus rapidement, mais, vers la fin du second jour, le *Staphylocoque* domine. C'est dans le courant du quatrième jour que ce dernier coccus paraît atteindre son développement maximum, tandis que la réaction cellulaire atteint, elle aussi, son apogée. A partir

de cette époque, l'organisme semble en état d'enrayer la prolifération microbienne. Le pus est moins riche en germes, les colonies d'*Entérocoque*, de *M. candidus* sont en outre plus rares; le *Staphylocoque* lui-même est en voie de décroissance.

Mais, dans les liquides souillant la peau environnant la plaie, puis dans le pus même, on voit apparaître de nouveaux hôtes : le *B. cutis communis*, puis un autre communiquant au pansement une forte odeur ammoniacale : le *B. proteus* ; puis un autre, enfin, le *B. pyocyanique* ajoutant son odeur aromatique. Les compresses présentent alors, mais pas toujours, certaines races donnant peu de pigment, ces larges taches d'un beau jaune d'or cernées d'un liséré bleu vert. La date d'apparition de ces deux germes est assez variable; elle peut être précoce, dans le courant du deuxième jour par exemple; elle est d'ordinaire plus tardive.

Au bout de peu de temps, ces deux dernières bactéries semblent prendre la place des autres qui, une à une, disparaissent. Seuls quelques échantillons de *Staphylocoque* semblent pouvoir survivre. Ce n'est qu'au bout de plusieurs semaines qu'on voit enfin disparaître le *B. proteus* et, tout à fait dans les derniers jours de la cicatrisation, quand les bourgeons charnus le couvrent d'épiderme, qu'on cesse d'isoler le *B. pyocyanique*. Dans les dernières gouttes de pus subsistent seuls le *Staphylocoque* et le *B. cutis communis*.

Toutes ces plaies purulentes ne possèdent pas une flore microbienne aussi riche. Elles peuvent ne pas être infectées de *B. proteus* ou de *B. pyocyanique* et ne donner que du *Staphylocoque* et du *B. cutis communis*. Leur évolution est à peu près la même et n'en paraît pas sensiblement raccourcie.

Les *plaies purulentes fébriles* présentent des troubles locaux et généraux caractéristiques. Les réactions locales intenses : gonflement, érythèmes, lymphangites, abcès à rechute; les réactions générales, cette fièvre à grandes oscillations sont connues de longue date, comme il est également bien connu que l'agent de tous ces accidents est le *Streptocoque* vrai. Nous nous bornerons donc à suivre l'évolution de ce coccus dans une plaie de guerre.

Dans la plaie même, au début, il est associé au *Staphylocoque*, au *B. cutis communis*, au *M. candidus*, à *l'Entérocoque*,

au *D. griseus*, aux *Sarcines*; mais son développement est autrement plus rapide que celui des autres germes. Il est nettement l'espèce dominante et quand, vers le quatrième ou cinquième jour, les autres commencent à décroître, nous trouvons encore sur nos milieux des centaines de colonies. Sa décroissance est lente et demande plusieurs semaines.

Quand la plaie s'infecte de *B. pyocyanique* et de *B. proteus*, sa pullulation semble gênée en surface; mais dans la profondeur de la plaie elle reste la même.

On connaît la facilité avec laquelle le *Streptocoque* se développe dans la lymphe et le sang; il possède des affinités semblables pour le tissu osseux et médullaire. Dès qu'un os du voisinage présente la moindre lésion traumatique, il est infecté. Peut-être même peut-il s'infecter sans aucune lésion préalable. Le microbe semble s'y créer une sorte de refuge contre les défenses de l'organisme.

Quand la fièvre sera tombée, que la plaie rétrécie, comblée, ne présentera plus qu'un léger pertuis, nous trouverons à la surface du *Staphylocoque* et du *B. cutis communis*. Mais, dans le trajet fistuleux venant jusqu'à l'os, dans la sérosité qui s'en échappe, nous trouverons encore, plusieurs mois après la blessure, du *Streptocoque* formant parfois 50 p. 100 des germes qui y vivent. Un traumatisme peut être l'occasion d'un réveil local dont le retentissement sur l'état général dépendra du degré de vaccination de l'organisme. Une intervention chirurgicale peut amener, après plusieurs mois, une pullulation intense.

L'affinité de ce coccus pour l'os nous a paru telle que nous croyons pouvoir diagnostiquer une lésion osseuse voisine, quand nous trouvons cette espèce dans une plaie ancienne. Nous n'avons pas encore rencontré de fistules osseuses, consécutives à une blessure, sans *Streptocoque*.

Dans les complications à distance : adénophlegmons, abcès, etc., on n'isole d'abord que ce coccus à l'état pur. Ce n'est qu'après l'intervention chirurgicale que nous voyons s'implanter les bactéries de la peau et, au hasard des infections, le *B. proteus* ou le *B. pyocyanique*.

De toutes les espèces aérobies, c'est évidemment le *Streptocoque* qui nous paraît la plus dangereuse, non seulement par les microbes qu'elle peut entraîner à sa suite, comme dans les

formes envahissantes de la gangrène gazeuse, mais encore par elle-même, par son action propre. C'est le microbe le plus tenace de tous ceux que nous pouvons trouver dans les plaies de guerre. Il végète encore dans des fistules de sept mois. Des blessures fermées, datant de seize et de vingt-deux mois, donnent encore des abcès à *Streptocoque*.

IV

Nous avons vu, en 1902 (1), qu'à côté de la putréfaction ordinaire due aux anaérobies, il pouvait en exister une autre du fait de l'action unique de germes aérobies. Nous avons essayé, en 1908 (2), de montrer la différence entre ces deux fermentations. Alors que, dans le premier cas, la destruction de l'albumine est rapide, brutale, que la molécule est pour ainsi dire brisée en gros morceaux; dans le second, cette désintégration est beaucoup plus lente, mais plus complète. Les putréfiants anaérobies ont besoin d'autres microbes pour achever leur œuvre; les aérobies, se suffisant à eux-mêmes, font disparaître du milieu la réaction du biuret et mènent la destruction jusqu'à l'ammoniaque.

Nulle part ailleurs mieux que dans les plaies de guerre, on ne saisit la différence entre ces deux fermentations. Dans une plaie récente, dans le tissu broyé par le projectile, il se fait une putréfaction ordinaire, anaérobie, avec tous ses caractères : production abondante de gaz; odeur fade, écœurante. Dans une plaie ancienne, ouverte, étalée, l'oxygène de l'air et celui du sang ne permettant qu'une fermentation aérobie, le *B. proteus* et le *B. pyocyanique* détruiront les matières albuminoïdes, en exhalant cette odeur ammoniacale de « vieille urine ». Les produits de cette putréfaction aérobie sont peut-être moins toxiques que ceux de la putréfaction anaérobie, mais, à la longue, leur résorption finit par produire une lente intoxication.

Le mode de résistance de l'organisme à l'action de tous ces

(1) TISSIER et MARTELLY, Putréfaction de la viande de boucherie. Ces *Annales*, t. XVI, décembre 1902, p. 865.

(2) TISSIER, Action comparée des microbes de la putréfaction sur les principales albumines. Ces *Annales*, t. XXVI, juillet 1912, p. 522.

germes présente des particularités intéressantes. Alors que l'immunité semble rapidement obtenue contre les bactéries banales de l'air ou des poussières, contre le *Staphylocoque*, elle débute vers le quatrième jour puis traîne indéfiniment. Contre le *Streptocoque*, elle est plus tardive et plus lente encore. Les premières poussées infectieuses s'accompagnent, au minimum, de vingt jours à un mois de grandes oscillations thermiques, les secondes, de deux semaines, les autres d'une semaine. C'est au bout de plusieurs mois qu'on peut voir des pullulations microbiennes sans réaction générale, comme si une sorte de vaccination était enfin obtenue. Elle serait, en tout cas, assez précaire, comme les rechutes fréquentes semblent le démontrer.

Nous avons vu que la résistance aux anaérobies s'organise plus vite et devient plus rapidement efficace. Elle débute vers le troisième jour et fait disparaître ces germes vers le dixième jour. Autour d'un corps étranger une zone de putréfaction peut persister ; mais peu à peu le tissu environnant s'organise, les bactéries perdent leur activité et sporulent. Cette immunité semble toute locale. Quand, au moment de l'extraction, on brise cette coque, les germes libérés reprennent toute leur activité première. En général, on trouve encore dans ces poussées du *Streptocoque*; mais les bactéries anaérobies ne possèdent pas les propriétés nécrosantes de celles qui infectent les blessures récentes. Le processus putride est facilement arrêté.

V

Toutes ces recherches ne font que confirmer ce que nous disions en terminant notre premier mémoire.

La *fermeture primitive* des plaies de guerre semble s'imposer, en raison des avantages qu'elle procure. Les complications putrides, graves, peuvent être évitées et même arrêtées si le malade est surveillé et si le bactériologiste renseigne assez tôt le chirurgien.

Il ne faut pas oublier que deux choses sont nécessaires à la germination des anaérobies : *un tissu privé de circulation sanguine* et la *présence d'aérobies*. Une large excision de tous les

tissus *exsangues*, l'ablation soigneuse de tout corps étranger gênera considérablement l'action des bactéries. Il ne restera qu'à déterminer la nature des aérobies pour établir le pronostic.

Si, par exemple, la plaie fermée, on n'isole des exsudats que des *cocci* de l'air ou de l'*Entérocoque*, on peut d'emblée porter un pronostic rassurant.

Si on parvient à déterminer du *Staphylocoque*, on pourra penser à une *forme putride envahissante lente*, mais qui peut avorter si l'exérèse est bien faite.

Si les cultures donnent du *Streptocoque* (1), il faudra prévoir une *forme putride envahissante rapide* et sans tarder désunir. L'apparition des accidents sera d'autant plus lente que la plaie contiendra moins de tissu mort. Le chirurgien a donc largement le temps d'intervenir une seconde fois, si sa première intervention a été suffisante.

Il est évident que cette fermeture primitive ne peut se faire qu'avant la pullulation microbienne de la fin du premier jour. Tout dépend de l'enlèvement rapide du blessé, de son transport à l'ambulance chirurgicale. Ce n'est, la plupart du temps, qu'une question d'organisation.

Quand l'infection putride se sera développée, il ne restera plus qu'à gêner son évolution par de larges débridements et surtout par l'élimination des tissus sphacélés. Quelle que soit la méthode employée : lavages fréquents au sérum artificiel ou au Dakin, ou pansements répétés à l'éther, elle sera bonne si elle arrive à ce résultat.

Quand nous nous trouvons en présence de plaies datant de plus d'une semaine, qui n'ont pas été fermées pour une raison quelconque, les examens bactériologiques peuvent encore être utiles au chirurgien, non seulement pour suivre, par des numérations plus ou moins exactes, la régression dans la plaie, mais surtout pour en déterminer la nature.

En effet, si nous nous trouvons en présence d'une de ces

(1) Ce résultat peut être donné rapidement, en quatre ou six heures. Ainsi du bouillon ordinaire ensemencé avec l'exsudat d'une blessure de dix-huit heures peut montrer, quatre heures après, les grumeaux, formés de chaînettes enroulées, caractéristiques du *Streptocoque*. Il présente un trouble uniforme avec des sérosités contenant du *Staphylocoque* ou les autres *cocci*.

formes bénignes ne contenant que des *cocci* de l'air ou de l'*Entérocoque*, la meilleure conduite à tenir est de rapprocher les lèvres de la plaie. Les résultats sont toujours favorables même en présence d'anaérobies.

S'il s'agit de *plaies purulentes* à *Staphylocoque*, le recollement des parties molles sera gêné par la production du pus ; mais on a encore avantage à maintenir rapprochés les bords de la plaie. On diminue la surface de suppuration, on empêche ou on restreint les infections surajoutées. Évidemment, il ne faudra tenter cette réunion qu'à partir du moment où les germes commenceront leur période de régression, c'est-à-dire vers le 10e jour. Elle a d'autant plus de chances de réussir, que cette élimination sera plus avancée.

Dans les *plaies purulentes fébriles*, au contraire, il est prudent, avant de tenter une réunion, de laisser l'organisme acquérir *une certaine immunité*, ce qui nous est indiqué par la baisse de la température ou par la pullulation des germes, sans nouvelle poussée fébrile. Il ne faut pas oublier que le squelette sous-jacent, avec des lésions en apparence insignifiantes, restera une source d'ennuis. Il est extrêmement difficile, sinon impossible, de débarrasser rapidement l'organisme du *Streptocoque*. Aucune des méthodes employées jusqu'ici ne nous a donné de résultats appréciables.

Comme nous venons de le voir, tout dépend de la nature du germe infectant. *Chaque plaie a son évolution propre qui dépend du germe qui l'infecte*. On peut obtenir des guérisons plus ou moins rapides, en rapprochant les bords de plaies où pullulent des espèces nombreuses, mais banales ; au contraire des plaies contenant, au milieu d'une flore microbienne pauvre, du *Streptocoque*, ne pourront se fermer avant longtemps.

On ne peut pas stériliser une plaie infectée, ou du moins je ne l'ai jamais vu faire ; mais ceci n'a aucune importance. Chacun sait de longue date que l'asepsie chirurgicale n'a rien de commun avec l'asepsie vraie. Peu de germes, en effet, peuvent gêner l'action du chirurgien ou entraver la cicatrisation des plaies. On ne doit chercher qu'à soulager l'organisme dans sa lutte contre le microbe. Tout ce qui gênera la prolifération microbienne, qui assurera l'élimination des produits toxiques, *sans léser la cellule*: pansements répétés, compresses humides,

lavages fréquents, méthode de Carrel, est appelé à rendre service.

Mais ce qu'il faut dire, c'est que le traitement des plaies de guerre n'est pas encore au point. On doit continuer ces recherches, sans crainte de redites, sans parti pris, sans idées préconçues, avec l'unique désir de faire le bien.

Mars 1917.

RECHERCHES
SUR LES BACILLES PSEUDO-DYSENTÉRIQUES
AU POINT DE VUE DE LEURS AFFINITÉS AVEC LES BACILLES DYSENTÉRIQUES ET LE *BACTERIUM COLI*

par L. NÈGRE.

Le groupe des « pseudo-dysentériques » comprend les germes, immobiles ou mobiles, qui ressemblent aux bacilles dysentériques des types Shiga ou Flexner, mais qui s'en séparent par certains caractères.

Une première catégorie comprend ceux qui ne produisent pas de gaz dans leur action fermentative sur les sucres. Ils paraissent se rattacher au groupe des bacilles dysentériques. Le pseudo-dysentérique de Kruse, par exemple, peut être identifié avec les bacilles du type Strong. Dopter [1] a montré que, dans la réaction de fixation du complément, il se comportait comme un bacille dysentérique.

A côté de ces derniers germes qui ne doivent pas sortir du groupe des dysentériques, il se trouve une autre catégorie de bacilles pseudo-dysentériques qui ont la propriété de former des gaz dans les milieux sucrés. Dopter [2] pense que ces germes doivent être rayés du groupe des dysentériques et rangés dans celui du *B. coli*.

Les analyses de selles dysentériques, effectuées depuis deux ans à l'Institut Pasteur d'Algérie, nous ont permis d'isoler un grand nombre de races de bacilles pseudo-dysentériques, caractérisées par leur action fermentative sur le lactose et le glucose avec dégagement de gaz.

Nous avons pensé qu'il serait intéressant d'éclaircir les affinités de ce groupe (pseudo-dysentériques faisant fermenter les sucres avec production de gaz) avec les bacilles dysentériques d'une part et le *B. coli* d'autre part, en étudiant cha-

cune des races isolées au point de vue des caractères morphologiques et culturaux, des actions biochimiques, du pouvoir pathogène, et des réactions d'agglutination et de fixation du complément. Tel est le but de ce travail, qui laisse systématiquement de côté le rôle encore discuté que ces bacilles peuvent jouer dans les affections intestinales.

Dans un premier chapitre, nous examinerons les bacilles pseudo-dysentériques immobiles; dans un deuxième chapitre, les pseudo-dysentériques mobiles.

I

BACILLES PSEUDO-DYSENTÉRIQUES IMMOBILES

Nos recherches portent sur 12 races isolées d'affections intestinales à allure typhoïdique (Sau et Ron), de dysenteries (Ray et Danv), d'états dysentériformes (Bou, Tr, Ali, Lacas, Riv, Dout, Ber 3182, Ber 3103).

A. — Caractères culturaux, actions biochimiques et pouvoir pathogène.

(Tableaux I et II.)

Toutes ces races, immobiles, ne prennent pas le Gram et ressemblent morphologiquement au bacille dysentérique. Elles ont les caractères communs suivants :

La culture sur gélose inclinée est un peu plus épaisse que celle du bacille dysentérique. Elle se rapproche comme aspect et comme abondance de celle du *B. coli*.

La culture sur gélatine présente les mêmes caractères que celle du bacille dysentérique. Pas de liquéfaction.

En bouillon, trouble uniforme dans toute la masse.

Sur pomme de terre, culture brun jaunâtre, saillante, à surface humide, identique à la culture du *B. coli*.

Toutes ces cultures sont inodores, la race Dout, seule dégage une odeur putride rappelant celle du *B. coli*.

Ces pseudo-dysentériques décolorent tous la gélose au rouge neutre en deux ou trois jours. Ils ne noircissent pas la gélose

au plomb et donnent de l'indol dans les vieilles cultures en faible quantité.

Tableau I. — **Bacilles pseudo-dysentériques immobiles. Actions biochimiques.**

RACES	GÉLOSE lactosée tournesolée	PETIT-LAIT tournesolé	LAIT	LACTOSE	GLUCOSE	GÉLOSE au rouge neutre	GÉLOSE au plomb	INDOL
Ray	0	0	Coag. (15 jrs)	Léger dégag[t] gaz (48 h.)	Gaz	Pas d'éclatement. Fluoresc.	0	+
Bou	0	0	0	Léger dégag[t] gaz (48 h.)	Gaz	Lég. écla[t]. Fluoresc.	0	+
Tr	Virée légèrem	Viré	Coag. (24 h.)	0	0	Pas d'écla[t]. Lég. fluoresc.	0	+
Ali	Virée légèrem	Viré	Coag. (8 jrs)	Léger dégag[t] gaz (48 h.)	Gaz	Lég. écla[t]. Fluoresc.	0	+
Sau	Virée	Viré	Coag. (12 jrs)	Gaz	Gaz	Lég. écla[t]. Fluoresc.	0	+
Lacas	Virée	Viré	Coag. (3 jrs)	Gaz	Gaz	Pas d'écla[t]. Fluoresc.	0	+
Riv	Virée	Viré	Coag. (3 jrs)	Gaz	Gaz	Pas d'écla[t]. Fluoresc.	0	+
Ron	Virée	Viré	Coag. (21 jrs)	Gaz	Gaz	Lég. écla[t]. Fluoresc.	0	+
Dout	Virée	Viré	Coag. (10 jrs)	Gaz	Gaz	Lég. écla[t]. Fluoresc.	0	+
Ber 3182	Virée	Viré	Coag. (3 jrs)	Gaz	Gaz	Lég. écla[t]. Fluoresc.	0	+
Ber 3103	Virée	Viré	Coag. (3 jrs)	Gaz	Gaz	Lég. écla[t]. Fluoresc.	0	+
Danv	Virée	Viré	Coag. (20 jrs)	Gaz	Gaz	Lég. écla[t]. Fluoresc.	0	+

Sur les milieux vaccinés par le bacille dysentérique Flexner et par le *B. coli*, ils ne poussent pas ou poussent très faiblement. Sur les milieux vaccinés par les bacilles pseudo-dysentériques, le bacille dysentérique Flexner et le *B. coli* se comportent de même.

Tableau II. — **Bacilles pseudo-dysentériques immobiles. Actions sur les sucres.**

RACES	LACTOSE	GLUCOSE	LÉVULOSE	GALACTOSE	MALTOSE	SACCHAROSE	MANNITE	ARABINOSE	DULCITE
Ray	0	+	+	+	+	0	+	+	+
Bou	0	+	+	+	+	0	+	+	0 +
Tr	+	+	+	+	+	0 +	+	+	0
Ali	+	+	+	+	+	+	+	+	0
Sau	+	+	+	+	+	0	+	+	0 +
Lacas	+	+	+	+	+	+	+	+	0
Riv.	+	+	+	+	+	+	+	+	0
Ron	+	+	+	+	+	0	+	+	0
Dout.	+	+	+	+	+	0	+	+	0
Ber, 3182. . .	+	+	+	+	+	0	+	+	0
Ber, 3.705 . .	+	+	+	+	+	0	+	+	0
Danv.	+	+	+	+	+	0	+	+	0
B. coli.	+	+	+	+	+	+	+	+	0

Le signe 0 indique une fermentation négative : le signe + une fermentation positive ; le signe 0 + une fermentation positive tardive.

L'inoculation intrapéritonéale de ces races de bacilles pseudo-dysentériques au cobaye provoque, comme pour le bacille dysentérique Flexner et le *B. coli*, une péritonite mortelle avec passage du microbe dans le sang. Par cette virulence constante, ils se rapprocheraient du bacille dysentérique, alors que, pour le colibacille, le pouvoir pathogène est très variable suivant les races isolées, et quelquefois nul ou très réduit.

Pour les autres caractères nos races peuvent se diviser en trois groupes :

Premier groupe. — Races Ray, Bou, Tr, Ali. Elles ne font pas virer la gélose lactosée tournesolée ou la font virer très légèrement. Deux d'entre elles font virer le petit-lait tournesolé et trois coagulent le lait. Elles ne font pas éclater la gélose au rouge neutre ou la font éclater très légèrement

(2 ou 3 bulles de gaz dans toute la masse de la gélose). Elles donnent un dégagement très faible de gaz avec le lactose, beaucoup plus abondant avec le glucose (excepté Tr). Elles ont une action fermentative sur le lévulose, le galactose, le maltose, la mannite, l'arabinose. Elles font fermenter d'une façon inconstante le saccharose et la dulcite.

Deuxième groupe. — Races Sau, Lacas et Riv. Elles font virer la gélose lactosée tournesolée en vingt-quatre à quarante-huit heures et le petit-lait tournesolé. Elles coagulent le lait. Elles font éclater d'une façon inconstante la gélose du rouge neutre (quelques bulles de gaz). Elles ont les mêmes actions sur les sucres que les races du groupe précédent, mais elles dégagent toujours un gaz abondant avec le lactose et le glucose.

Troisième groupe. — Races Ron, Dout, Ber 3182, Ber 3103, Danv. Elles font virer la gélose lactosée tournesolée en vingt-quatre à quarante-huit heures et le petit-lait tournesolé. Elles coagulent le lait en un délai de vingt-quatre heures à trois semaines. Elles donnent toujours un léger éclatement dans la gélose au rouge neutre (quelques bulles de gaz). Elles dégagent abondamment du gaz avec le lactose et le glucose.

Elles ont les mêmes actions sur les sucres que les races précédentes à part l'action sur le saccharose et la dulcite, qu'elles ne font pas fermenter.

En résumé, toutes ces races se rapprochent du bacille dysentérique par l'immobilité, l'absence d'odeur des cultures et le pouvoir pathogène.

Elles se rapprochent du *B. coli* par le dégagement de gaz avec le lactose et le glucose, le virage de la gélose lactosée tournesolée et du petit-lait tournesolé, la coagulation du lait, la décoloration de la gélose au rouge neutre, et l'aspect de la culture sur pomme de terre.

Elles accusent des affinités avec le bacille dysentérique Flexner et le *B. coli* par leur façon de se comporter sur les milieux vaccinés par ces deux microbes.

Les races du premier groupe ont une affinité plus marquée avec le bacille dysentérique par l'absence d'un des caractères suivants :

Fermentation du lactose, virage du petit-lait tournesolé, coagulation du lait.

Les races du deuxième groupe ont toutes les propriétés énoncées comme communes avec le *B. coli*, mais elles ne dégagent pas toujours des bulles de gaz dans la gélose au rouge neutre.

Les races du troisième groupe ont en plus des caractères des races précédentes, la propriété de faire toujours très légèrement éclater la gélose au rouge neutre et se rapprochent encore plus

du *B. coli*. La race Dout, qui appartient à ce groupe, a de plus, comme caractère commun avec ce dernier germe, l'odeur des cultures.

B. — Réactions d'agglutination.

(Tableau III.)

Nous avons préparé, avec sept de ces races pseudo-dysentériques choisies d'après leurs caractères biochimiques, des

Tableau III. — **Bacilles pseudo-dysentériques immobiles. Agglutinations.**

Sérums...	SHIGA	FLEXNER	RAY	BOU	ALI	SAU	RON	BER, 3103	DANV	COLI
Races :										
Flexner .	0	$\frac{1}{1.000}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{500}$	0	0	0	0	0	0
Ray . . .	0	$\frac{1}{1.000}$	$\frac{1}{5.000}$	$\frac{1}{100}$	0	0	0	0	0	0
Bou . . .	0	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{5.000}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	0	0	0	0
Tr. . . .	0	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{100}$	0	0	0	0
Ali . . .	0	0	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{1.000}$	$\frac{1}{1.000}$	$\frac{1}{100}$	0	0	0	0
Sau . . .	0	0	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1.000}$	$\frac{1}{5.000}$	0	$\frac{1}{100}$	0	0
Lacas . .	0	0	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	0	$\frac{1}{500}$
Riv . . .	0	0	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{1.000}$	$\frac{1}{1.000}$	$\frac{1}{1.000}$	$\frac{1}{500}$	0	0	$\frac{1}{500}$
Ron . . .	0	0	9	0	0	0	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{100}$	0	0
Dout . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	$\frac{1}{100}$
Ber, 3182.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ber, 3103.	0	0	0	0	0	0	0	$\frac{1}{500}$	0	0
Danv . .	0	0	0	0	0	0	0	0	$\frac{1}{500}$	0
B. coli . .	0	0	0	0	0	0	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{500}$	0	$\frac{1}{500}$

sérums agglutinants chez des lapins. Outre ces sept sérums antipseudo-dysentériques, nous avons fait agir sur les douze races, un sérum anti-Shiga, un sérum anti-Flexner, un sérum anti-Coli préparé avec trois races différentes. Nous n'avons tenu compte que des agglutinations positives à partir du 1/100.

Le sérum anti-Shiga n'a agglutiné aucun pseudo-dysentérique. Comme on peut s'en rendre compte sur le tableau III, nos races pseudo-dysentériques peuvent se classer en trois catégories au point de vue de l'agglutination.

Premier groupe. — Races Ray, Bou, Tr, qui sont agglutinées par le sérum anti-Flexner. La race Flexner est agglutinée par leurs sérums. Elles sont réciproquement agglutinables par leurs sérums. Bou et Tr sont agglutinées par les sérums antipseudodysentériques Ali et Sau. Aucune de ces races n'est agglutinée par le sérum anti-Coli.

Deuxième groupe. — Races Ali et Sau. Elles ne sont agglutinées ni par le sérum anti-Flexner ni par le sérum anti-Coli. Elles se rapprochent des races précédentes, car elles sont agglutinées par leurs sérums.

Troisième groupe. — Toutes les autres races excepté Danv.

Toutes ces races ne sont pas agglutinées par le sérum anti-Flexner. Leurs sérums n'agglutinent pas la race Flexner. Elles sont agglutinées par le sérum anti-Coli ou bien le sérum anti-Coli les agglutine.

Les unes, comme Lacas et Riv, se rapprochent des races des deux groupes précédents. Elles sont agglutinées par leurs sérums. Les autres en paraissent plus éloignées.

Seule la race Danv n'est agglutinée par aucun sérum.

En résumé, le premier groupe se rapproche de la race du bacille dysentérique Flexner, le troisième groupe se rapproche du *B. coli*, le deuxième groupe se comporte comme un groupe intermédiaire entre les deux précédents.

C. — Réaction de fixation du complément.

(Tableau IV.)

Il était indispensable de compléter les résultats donnés par l'agglutination par l'épreuve encore plus sensible de la déviation du complément. Nous nous sommes servi des sérums des lapins qui avaient été préparés pour la recherche de l'agglutination. Les antigènes employés ont été des cultures sur gélose de vingt-quatre heures émulsionnées en quantité convenable dans de l'eau physiologique.

La réaction de fixation du complément était faite avec des proportions fixes de sérum et d'antigène, et en présence de quantités croissantes d'alexine.

TABLEAU IV. — **Bacilles pseudo-dysentériques immobiles. Réactions de fixation.**

Sérums...	SHIGA	FLEXNER	RAY	BOU	ALI	SAU	RON	BER 3103	DANV	COLI
Races :										
Flexner..	1	3	1	2	1	2	0	0	0	0
Ray. . .	1	1	2	2	1	2	0	1	1	1
Bou. . .	0	1	1	4	4	3	0	0	1	1
Sau. . .	0	0	0	1	2	4	1	1	2	1
Ron. . .	0	0	0	1	1	1	3	2	0	1
Lacas. .	0	1	1	1	1	1	2	0	0	1
Riv . . .	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1
Dout . .	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1
Ber 3182.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Ber 3103.	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1
Danv . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
B. coli. .	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1

Les chiffres sont les unités d'alexine qui, dans chaque cas, ont donné une réaction positive. Le chiffre 0 indique une réaction de fixation négative.

Les résultats donnés par la réaction de fixation se calquent sur ceux donnés par l'agglutination, mais permettent d'établir des liens de parenté plus étendus.

Comme pour les réactions d'agglutination, nous pouvons diviser les races étudiées en trois groupes, qui s'éloignent du bacille dysentérique type Flexner à mesure qu'ils se rapprochent du *B. coli*.

Premier groupe. — Races Ray, Bou et Tr, qui sont les seules à donner une réaction de fixation positive avec le sérum Flexner.

Deuxième groupe. — Races Ali, Sau, Ron et Lacas qui se rapprochent encore des races du groupe précédent, mais sans donner une réaction de fixation positive avec le sérum anti-Flexner.

Troisième groupe. — Toutes les autres races, qui s'éloignent de plus en plus du groupe précédent.

Mais plus sensible que la réaction d'agglutination, la réaction de fixation affirme pour toutes ces races une affinité avec le *B. coli*, soit que leurs sérums donnent une réaction de fixation positive avec ce germe, soit que le sérum anti-Coli donne une réaction de fixation positive avec ces races.

D. — CONCLUSIONS.

Tous les caractères que nous venons de passer successivement en revue donnent des résultats concordants et établissent l'existence de trois groupes pour les bacilles pseudo-dysentériques que nous avons isolés. Nous ne créons ces groupes que pour la commodité de la classification.

Les races du premier groupe se rapprochent du bacille dysentérique type Flexner par l'absence de certains caractères biochimiques, par la réaction d'agglutination et par la réaction de fixation.

Les races du troisième groupe se rapprochent du *B. coli* par leurs propriétés biochimiques et par la réaction d'agglutination et de fixation.

Entre les deux groupes, se place un groupe intermédiaire qui, suivant les caractères envisagés, empiète plus ou moins sur les deux groupes extrêmes.

Pour toutes ces raisons, les bacilles pseudo-dysentériques immobiles que nous avons étudiés nous paraissent constituer un groupe de transition entre les bacilles dysentériques et le *B. coli*.

II

BACILLES PSEUDO-DYSENTÉRIQUES MOBILES

Nous avons isolé cinq races de bacilles pseudo-dysentériques mobiles. Une sixième race nous a été donnée par M. le Dr Lemaire, que nous tenons à remercier ici.

A. — Caractères culturaux et actions biochimiques.

(Tableaux V et VI.)

Ces bacilles ressemblent morphologiquement au bacille dysentérique. Ils ne s'en séparent que par la mobilité, qui est en général peu accentuée. Beaucoup de germes paraissent immobiles dans une préparation, mais au milieu d'eux on en voit certains nettement mobiles.

Tableau V. — **Bacilles pseudo-dysentériques mobiles. Actions biochimiques.**

RACES	GÉLOSE lactosée tournesolée	PETIT-LAIT tournesolé	LAIT	LACTOSE	GLUCOSE	GÉLOSE au rouge neutre	GÉLOSE au plomb	INDOL
Ber 2760	Virée (48 h.)	0	0	Léger dégagt gaz (48 h.)	Gaz	Léger éclatement. Fluoresc.	0	0
Lem	Virée (48 h.)	Viré	Coag. (8 jrs)	Gaz	Gaz	Pas d'éclat. Fluoresc.	0	+
Las	Virée (24 h.)	Viré	Coag. (3 jrs)	Gaz	Gaz	Lég. éclat. Fluoresc.	0	+
Ber 3706	Virée (24 h.)	Viré	Coag. (2 jrs)	Gaz	Gaz	Lég. éclat. Fluoresc.	0	+
Em	Virée (24 h.)	Viré	Coag. (3 jrs)	Gaz	Gaz	Lég. éclat. Fluoresc.	0	+
Chat	Virée (24 h.)	Viré	Coag. (3 jrs)	Gaz	Gaz	Pas d'éclat. Fluoresc.	0	+

Sur gélose, gélatine, pomme de terre et en bouillon, mêmes caractères que les bacilles pseudo-dysentériques immobiles.

Leurs cultures ne dégagent pas d'odeur putride excepté celle de Chat. Sur les milieux vaccinés et par leur pouvoir pathogène, ils se comportent aussi comme les bacilles pseudo-dysentériques immobiles.

Ils font virer la gélose lactosée tournesolée en vingt-quatre à quarante-huit heures et le petit-lait tournesolé, et coagulent le lait en trois à huit jours. Ils décolorent la gélose au rouge neutre sans éclatement ou en dégageant quelques bulles de gaz. Ils donnent de l'indol dans les vieilles cultures en faible quantité. Ils font fermenter le lactose et le glucose avec production de gaz abondant. Ils font fermenter également les lévulose, galactose, maltose, mannite et arabinose d'une façon constante, et le saccharose et la dulcite d'une façon inconstante.

La race Ber 2760 seule a des caractères un peu différents. Elle ne fait pas virer le petit-lait tournesolé et ne coagule pas le lait. Elle donne un très léger dégagement de gaz avec le lactose et ne produit pas d'indol. Sur pomme de terre, sa culture a l'aspect du bacille dysentérique et non du *B. coli*.

Tableau VI. — **Bacilles pseudo-dysentériques mobiles. Actions sur les sucres.**

RACES	LACTOSE	GLUCOSE	LÉVULOSE	GALACTOSE	MALTOSE	SACCHAROSE	MANNITE	ARABINOSE	DULCITE
Ber 2760 . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	0
Lem	+	+	+	+	+	+	+	+	0 +
Las	+	+	+	+	+	0	+	+	0
Ber 3706 . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	0
Em.	+	+	+	+	+	+	+	+	0
Chat	+	+	+	+	+	0	+	+	0
B. coli	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Mêmes signes que pour le tableau II.

En résumé, cinq de ces races ont les caractères du deuxième groupe des bacilles pseudo-dysentériques immobiles. La race Ber 2760 a les caractères du premier groupe.

B. — Caractères d'agglutination.

(Tableau VII.)

Nous avons fait agir sur les six races les sérums anti-Shiga, anti-Flexner et anti-Coli, les sérums préparés avec les bacilles pseudo-dysentériques immobiles et un sérum préparé avec une race pseudo-dysentérique mobile.

Comme on peut le voir sur le tableau VII, les races Lem et Las se rapprochent par leur agglutinabilité du bacille dysentérique type Flexner. La race Em se rapproche du *B. coli*.

Tableau VII. — **Bacilles pseudo-dysentériques mobiles. Agglutinations.**

Sérums...	SHIGA	FLEXNER	RAY	BOU	ALI	SAU	RON	BER 3103	DANV	CHAT	COLI
Races :											
Ber 2760.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lem . .	0	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	0	0	0	0	0	0	0
Las . . .	0	0	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{500}$	0	0	$\frac{1}{100}$	0
Ber 3706.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Em . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	$\frac{1}{500}$
Chat. . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	$\frac{1}{500}$	0
B. coli. .	0	0	0	0	0	0	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{500}$	0	0	$\frac{1}{500}$

Les races Ber 2760, Ber 3706 et Chat n'ont été agglutinées par aucun de ces sérums.

C. — Réaction de fixation.

(Tableau VIII.)

Ces épreuves sont venues compléter les résultats précédents pour éclaircir les affinités de ces différentes races avec le bacille dysentérique et le *B. coli*.

D'après les résultats obtenus, on peut voir que les races Lem, Las, Ber 2760 et Ber 3706 se rapprochent de la race Flexner. La réaction de fixation avec le *B. coli* est négative.

La race Em se rapproche par la réaction de fixation du bacille pseudo-dysentérique immobile Ron.

Tableau VIII. — **Bacilles pseudo-dysentériques mobiles. Réactions de fixation.**

Sérums...	FLEXNER	RAY	BOU	ALI	SAU	RON	BER 3103	DANV	CHAT	COLI
Races :										
Ber 2760.	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
Lem . .	2	2	2	1	1	1	0	0	0	0
Las. . .	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Ber 3706.	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0
Em . . .	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Chat . .	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1

Mêmes signes que pour le tableau IV.

Enfin, la race Chat est la seule à donner une réaction positive avec le sérum anti-Coli.

D. — Conclusions.

En résumé, d'après tous les caractères envisagés, le groupe des bacilles pseudo-dysentériques mobiles paraît être, comme celui des bacilles pseudo-dysentériques immobiles, un groupe de transition entre les bacilles dysentériques et le *B. coli*. Ils ont avec ce dernier germe un caractère commun de plus : la mobilité. Mais pour tous les autres caractères, ils se comportent comme les bacilles pseudo-dysentériques immobiles.

La race Ber 2760 a plusieurs caractères communs avec le bacille dysentérique : culture sur pomme de terre, absence de virage du petit-lait tournesolé et de coagulation du lait.

Les races Lem, Las, Ber 3706 sont plus éloignées que Ber 2760 du bacille dysentérique, mais, contrairement aux bacilles pseudo-dysentériques immobiles correspondants, elles ne donnent pas de réaction de fixation positive avec le *B. coli*.

Enfin, les races Em et Chat, qui sont agglutinées par le sérum anti-Coli ou donnent avec lui une réaction de fixation positive, sont beaucoup plus rapprochées que les précédentes du *B. coli*.

La race Chat est un *B. coli* par tous ses caractères excepté l'agglutination, l'action fermentative négative sur le saccharose et la dulcite, l'absence d'éclatement de la gélose au rouge neutre.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les bacilles pseudo-dysentériques, immobiles et mobiles, se comportent de la même façon sur les divers milieux de culture et sur les milieux vaccinés; ils se ressemblent par leurs actions sur les sucres, leurs réactions d'agglutination et de fixation du complément et leur pouvoir pathogène, et appartiennent à un même groupe qui paraît constituer un groupe de transition entre les bacilles dysentériques et le *B. coli*. Ils ne diffèrent entre eux que par la mobilité qui, comme cela peut arriver dans tout groupe de transition, constitue un caractère non encore fixé.

S'ils sont plus souvent immobiles que mobiles, c'est cependant avec le *B. coli* qu'ils présentent les affinités les plus grandes : fermentation du lactose et du glucose avec dégagement de gaz, coagulation du lait, culture sur pomme de terre, réaction de fixation du complément.

Aussi pensons-nous avec Dopter que ces bacilles pseudo-dysentériques doivent être rayés du groupe dysentérique et rangés dans le groupe du *B. coli*. Ils nous paraissent former un groupe intermédiaire entre les bacilles dysentériques et le *B. coli*.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Dopter. — Sensibilisatrice spécifique dysentérique dans le sérum des animaux vaccinés et des malades. *Annales de l'Institut Pasteur*, 25 décembre 1905, p. 753, t. XIX.

[2] Dopter. — La dysenterie bacillaire. Bactériologie. Discussion sur son unité spécifique. *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1906, p. 1 et 49.

[3] W. Falta et Henriette Kohn. — Zur Frage der Variabilität von Dysenterien-Stämmen der galizisch-russischen Epidemie. *Wien. klin. Woch.*, 3 juin 1915, vol. XXVIII, n° 22, p. 583-589.

[4] Hutt. — Neue Beiträge zur Kenntniss der Pseudodysenterie und Paradysenterie sowie der sogennanten Mutation. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1913, t. LXXIV, p. 108.

[5] Kemp. — Ueber Paradysenterie. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1907, t. LVII, p. 489.

[6] Kruse, Rittershaus, Kemp, Metz. — Dysenterie und Pseudodysenterie. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1907, t. LVII, p. 417.

[7] L. Nègre. — Infections à bacilles pseudo-dysentériques en Algérie. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, séance du 22 janvier 1916, t. LXXIX, p. 44.

[8] L. Nègre, Ed. Sergent et Foley. — Le rôle des bacilles pseudo-dysentériques dans les affections intestinales en Algérie. *Bull. Soc. Path. exot.*, 12 avril 1916, t. IX, n° 4.

[9] L. Sonne. — Ueber der Bakteriologie der giftarmen Dysenteriebacillen (Paradysenteriebacillen). *Centr. f. Bakt.*, I Abt. *Or.*, Bd LXXV, Heft 5/6, p. 408, 1915.

ÉTUDES EXPERIMENTALES
SUR LA VACCINATION ANTITYPHOIDIQUE
(VACCIN MIXTE TAB)

LEUCOCYTOSE — AGGLUTININES

par JULES COURMONT et A. ROCHAIX.

(Travail de l'Institut bactériologique de Lyon.)

Nous avons recherché les modifications qu'entraîne, chez les animaux, l'injection sous-cutanée de vaccin antityphoïdique et antiparatyphoïdique, mixte TAB, au point de vue des variations leucocytaires et du développement des agglutinines.

I. — LEUCOCYTOSE

Les travaux de Tonnel (1), J. Courmont et A. Devic (2), Hallion et Méry (3) ont montré que *chez l'homme*, les injections sous-cutanées de vaccin triple TAB déterminent l'apparition d'une hyperleucocytose polynucléaire, suivie de mononucléose.

Nous avons voulu vérifier ces faits sur le *lapin* et le *chien*, après injections sous-cutanées de vaccin antityphique triple TAB de Widal, préparé à l'Institut Pasteur (vaccin chauffé), ou de vaccin à l'éther de Vincent.

(1) Tonnel, Contribution à l'étude des réactions humorales dans la vaccination antityphoïdique et antiparatyphoïdique AB (vaccin de Vincent). *Société médico-chirurgicale militaire de la XIVe région*, janvier 1916; *Lyon médical*, avril 1916, t. CXXV, p. 108.

(2) J. Courmont et A. Devic, La leucocytose consécutive à la vaccination antityphoïdique et antiparatyphoïdique. *Comptes rendus de l'Acad. des sciences*, 6 novembre 1916, t. CLXIII, p. 534.

(3) Hallion et Méry. Modifications de la leucocytose sanguine à la suite d'injections successives de vaccin TAB chauffé. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 2 décembre 1916, t. LXXIX, p. 1026.

I. — Expériences sur le lapin.

Quatre lapins (poids moyen de 3 kilogrammes; 8 à 11.000 leucocytes par millimètre cube) sont injectés sous la peau avec un demi-centimètre cube de vaccin TAB; deux avec le vaccin Widal (chauffé); deux avec le vaccin Vincent (éther).

Trois heures après l'injection, la leucocytose est à peine modifiée; neuf heures après, l'hyperleucocytose est très marquée chez les quatre lapins (jusqu'à 47.062 leucocytes). Cette hyperleucocytose persiste les jours suivants, avec de notables variations, puis s'abaisse.

Huit jours plus tard, seconde injection (1 cent. cube) : mêmes phénomènes.

La température des animaux n'est pas modifiée. On constate, le premier jour qui suit l'injection, un léger degré d'abattement des animaux, qui se cachent, le poil hérissé. L'appétit n'a pas paru influencé.

Les numérations leucocytaires, pratiquées deux fois par jour, matin et soir, ont montré des variations brusques et inopinées. Une étude détaillée et précise des variations leucocytaires spécifiques, consécutives aux injections de vaccin, nous a donc paru impossible chez le lapin. Nous avons abandonné cet animal.

II. — Expériences sur le chien.

A. — *Formule leucocytaire du chien normal.*

Chez le *chien normal*, le nombre des leucocytes, s'il est variable d'une race à l'autre, est assez constant, chez un même animal, soumis à un régime régulier, si l'on a soin de faire les prises de sang à des heures fixes. La formule leucocytaire du chien est voisine de celle de l'homme. Il existe cependant quelques différences. Les leucocytaires mononucléaires sont presque exclusivement composés de lymphocytes grands et petits; leur proportion est de 14 à 20 p. 100. Les leucocytes mononucléaires, ressemblant aux mononucléaires moyens de l'homme, ne sont qu'en très faible proportion (0,5 à 1 p. 100). Les polynucléaires éosinophiles sont assez nombreux (4 à

5 p. 100, parfois plus de 10 p. 100). Les polynucléaires basophiles sont rares. Les formes de transition sont relativement nombreuses (3 à 5 p. 100).

B. — *Expériences avec des doses fortes.*

Un premier lot de chiens reçoit le vaccin, aux doses administrées à l'homme, sans tenir compte du poids respectif des animaux. Ces doses sont donc considérables si on les rapporte au kilogramme de chien.

I. — *Vaccin TAB chauffé.* Deux chiens (n^{os} I et II), pesant respectivement 8 et 14 kilogrammes, reçoivent successivement, par voie sous-cutanée, à huit jours d'intervalle, 1, 1 1/2, 2 et 3 cent. cubes de *vaccin TAB chauffé*. Les réactions leucocytaires totales sont représentées par les graphiques des figures 1 et 2.

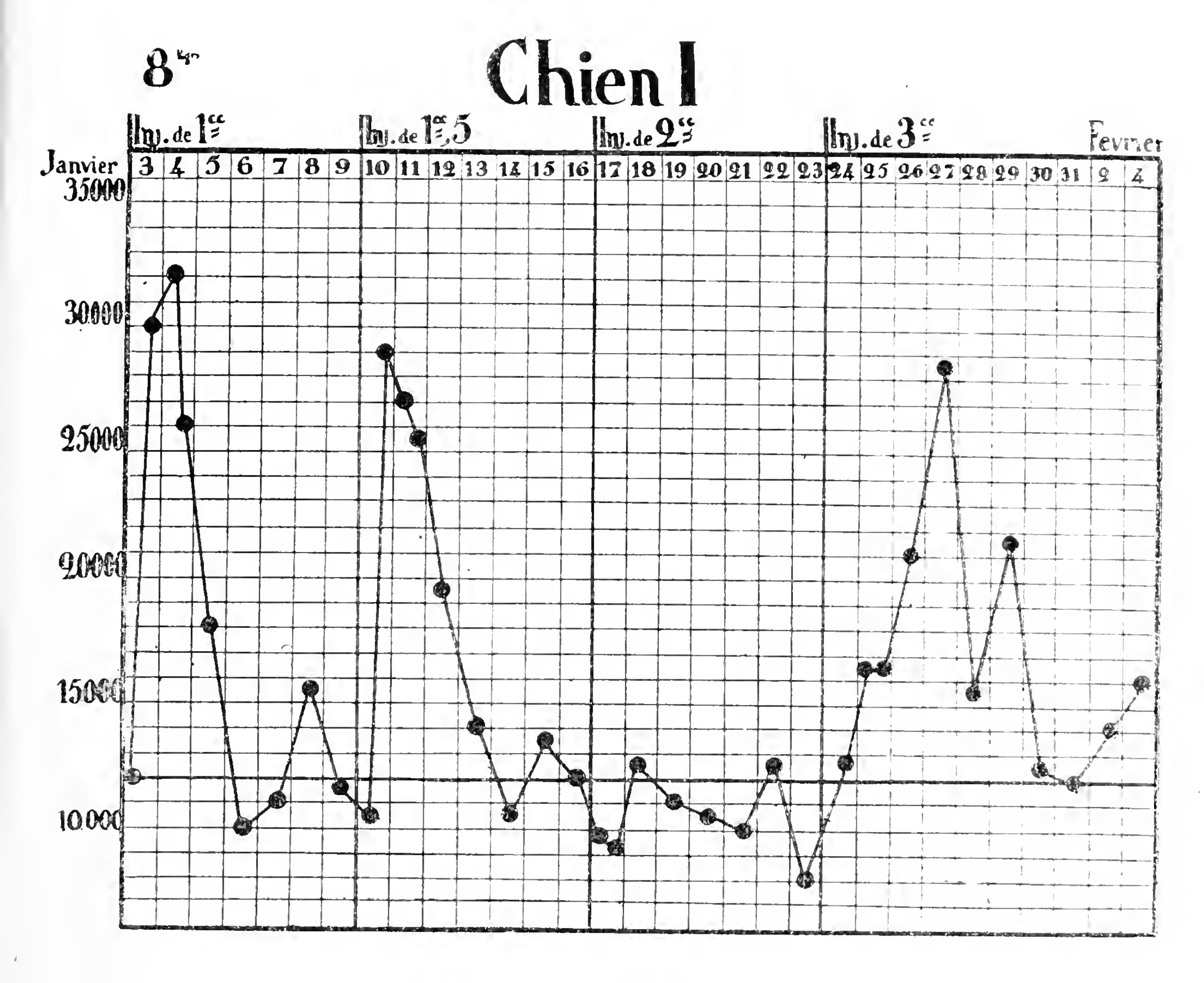


Fig. 1. — Courbe leucocytaire chez un chien (chien I) ayant reçu 4 injections de vaccin TAB chauffé.

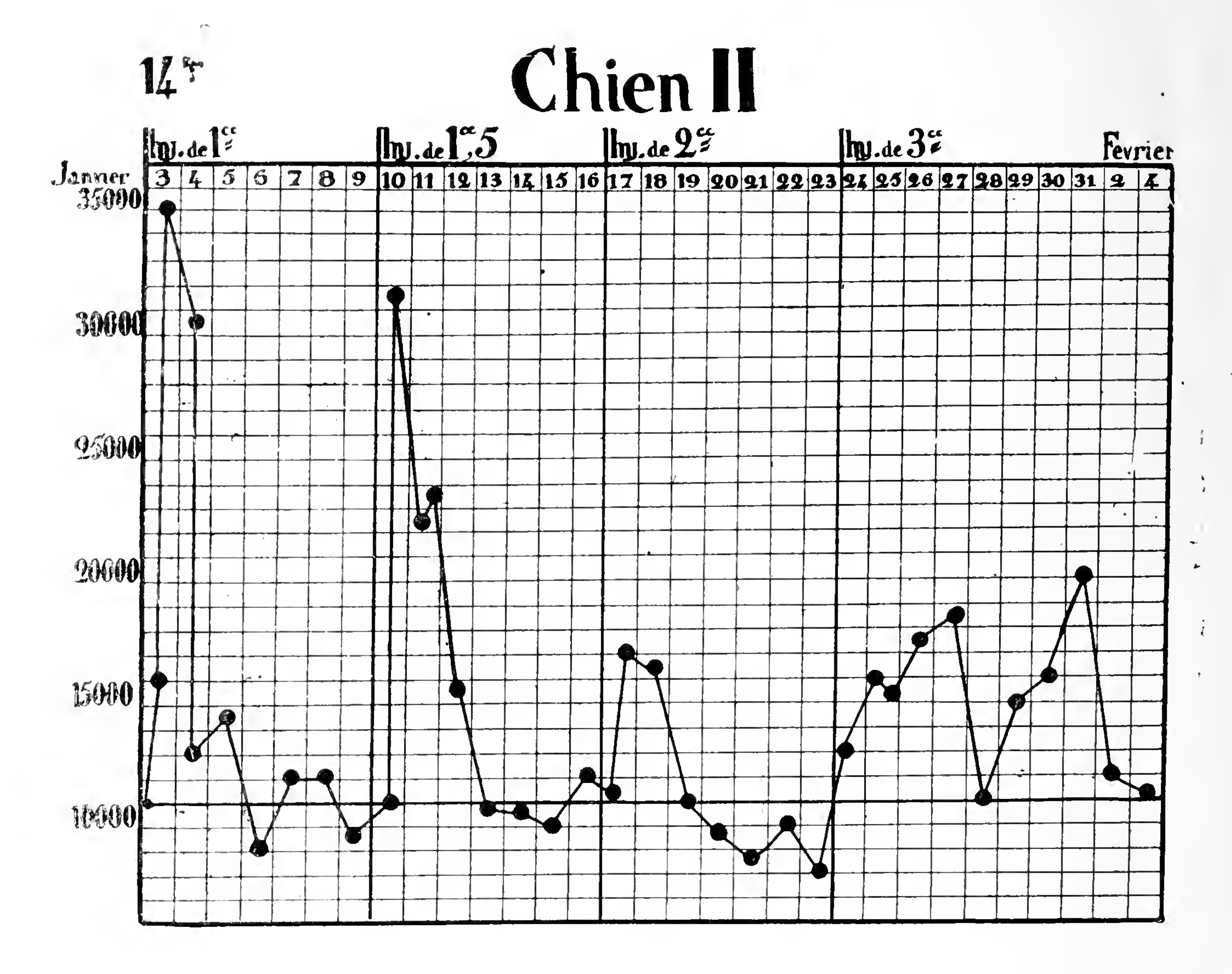


Fig. 2. — Courbe leucocytaire chez un chien (chien II) ayant reçu 4 injections de vaccin TAB chauffé.

L'état général des animaux n'a pas été altéré. Pas d'élévation de température. Pas de perte de l'appétit. Pas de troubles locaux.

L'étude comparative de la courbe leucocytaire et des modifications qualitatives spéciales à chaque groupe de leucocytes a été faite par coloration au Giemsa, pour chaque prise de sang.

Ainsi, chez le premier chien, la veille de la première injection, la leucocytose totale était de 13.568, les polynucléaires étaient de 72 p. 100 et les grands et petits lymphocytes de 16 p. 100.

Le lendemain, la leucocytose totale était de 32.187, on comptait 91 p. 100 de leucocytes neutrophiles et 5 p. 100 seulement de grands et petits lymphocytes. Trois jours après l'injection, pour une leucocytose totale de 10.071, on comptait 50 p. 100 de polynucléaires neutrophiles. L'équilibre se rétablit peu à peu les jours suivants.

La veille de la seconde injection, pour une leucocytose totale

de 11.250, on comptait 62 polynucléaires neutrophiles et 27 grands et petits lymphocytes.

Onze heures après cette seconde injection, pour une polynucléose totale de 28.875, on comptait 81 polynucléaires neutrophiles et 10 grands et petits lymphocytes. Quatre jours après cette seconde injection, pour une polynucléose de 10.625, on comptait 48 polynucléaires neutrophiles et 45 gros et petits lymphocytes.

Après la troisième et la quatrième injection, les écarts de la formule leucocytaire furent à peine marqués.

Chez le second chien, l'inversion de la formule leucocytaire, peu marquée après la troisième injection, fut très nette après la quatrième.

Chez le troisième et le quatrième chien vaccinés, tous deux à dose massive à l'éther, la même inversion de la formule leucocytaire a été observée chaque fois qu'après une injection apparaissait une augmentation du nombre des globules blancs.

On arrive aux conclusions suivantes :

1° La réaction leucocytaire est intense et presque semblable après les deux premières injections ; elle est faible après la troisième injection ; elle est variable et irrégulière après la quatrième.

2° Les modifications qualitatives sont les suivantes : pourcentage normal pour les polynucléaires éosinophiles ou basophiles, pour les mononucléaires, les mononucléaires intermédiaires. Apparition très rare de quelques myélocytes neutrophiles. Polynucléose neutrophile, correspondant à un abaissement de lymphocytes, pendant la réaction. Ensuite : abaissement des polynucléaires neutrophiles au-dessous du taux normal, et augmentation des lymphocytes (mononucléose). Donc : polynucléose, suivie de mononucléose.

II. — *Vaccin TAB à l'éther.* — Deux chiens (n°s III et IV), de 2 à 12 kilogrammes, reçoivent successivement, sous la peau, à 8 jours d'intervalle : 1, 1 1/2, 2 et 3 cent. cubes de vaccin TAB à l'éther, de Vincent.

Les figures 4 et 5 indiquent la courbe de la leucocytose.

La comparaison des courbes leucocytaires et des modifications qualitatives spéciales à chaque groupe de leucocytes montre

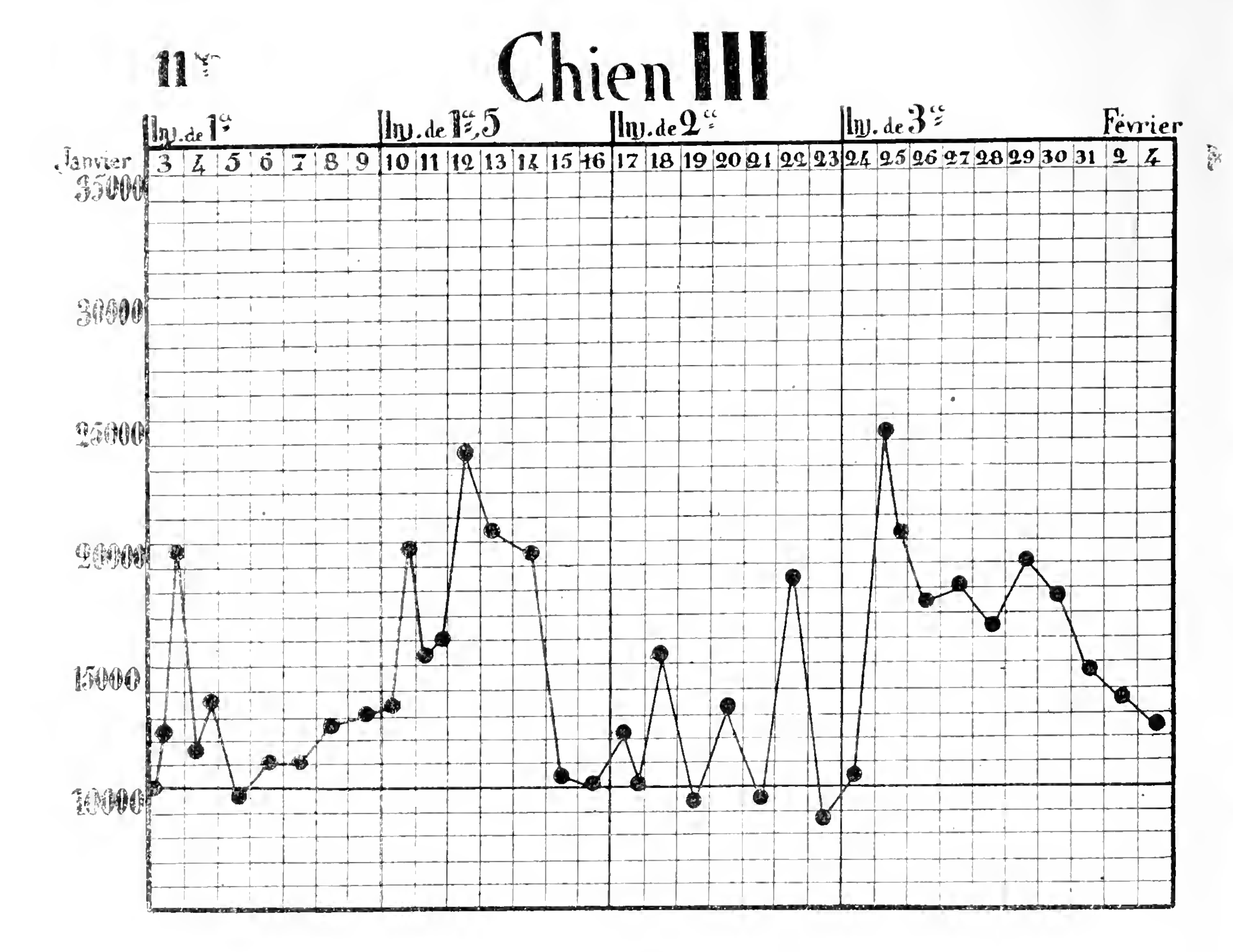


Fig. 3. — Courbe leucocytaire chez un chien (chien III) ayant reçu 4 injections de vaccin TAB à l'éther.

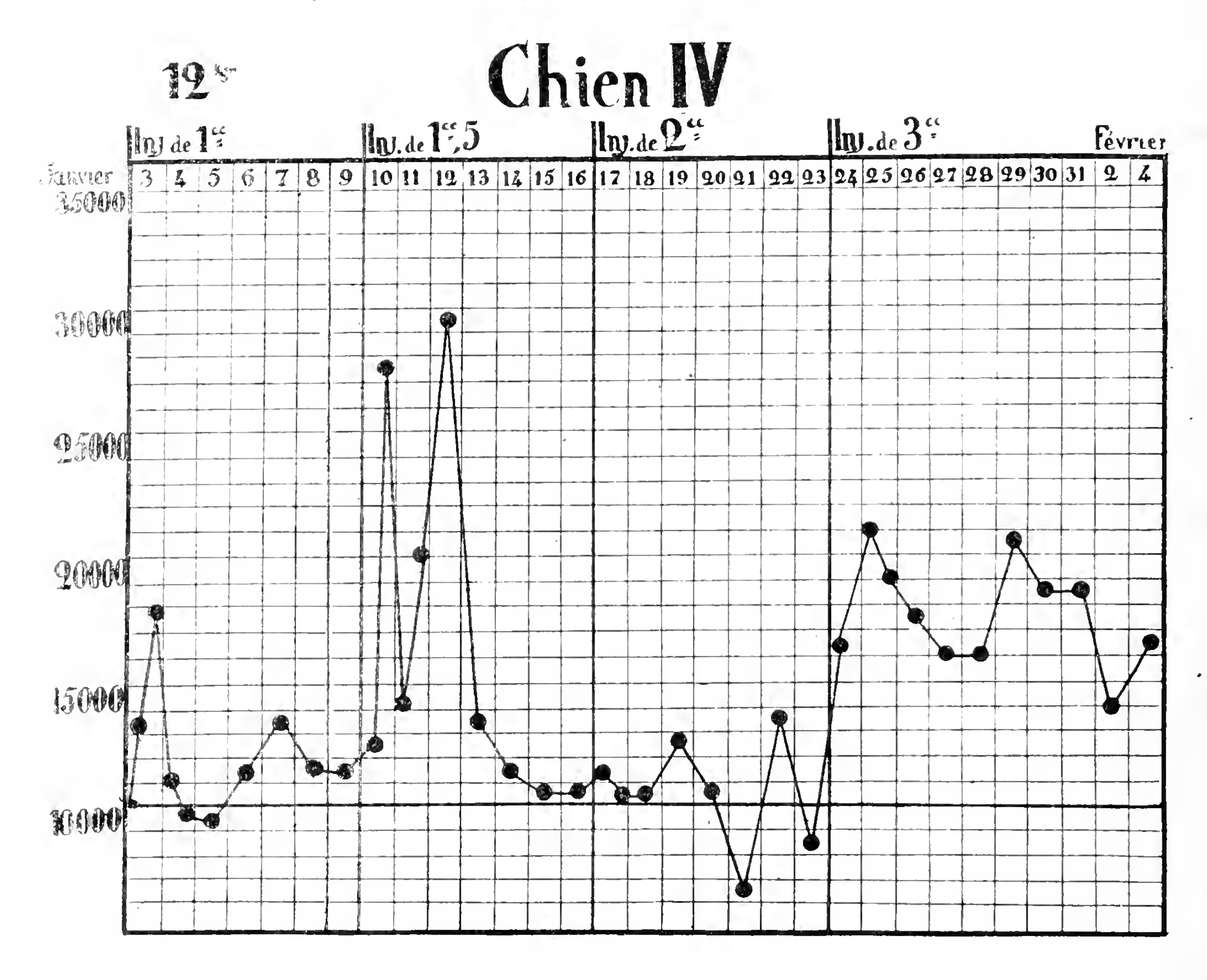


Fig. 4. — Courbe leucocytaire chez un chien (chien IV) ayant reçu 4 injections de vaccin TAB à l'éther.

des phénomènes comparables à ceux observés chez les chiens I et II. La réaction est cependant moins accusée, surtout après la première injection, chez les chiens injectés avec le vaccin à l'éther, que chez les chiens vaccinés avec le vaccin chauffé.

C. — *Expériences avec des doses proportionnelles au poids.*

Il y avait intérêt à expérimenter des doses de vaccin moins fortes, comparables, quant au poids des animaux, aux doses employées chez l'homme.

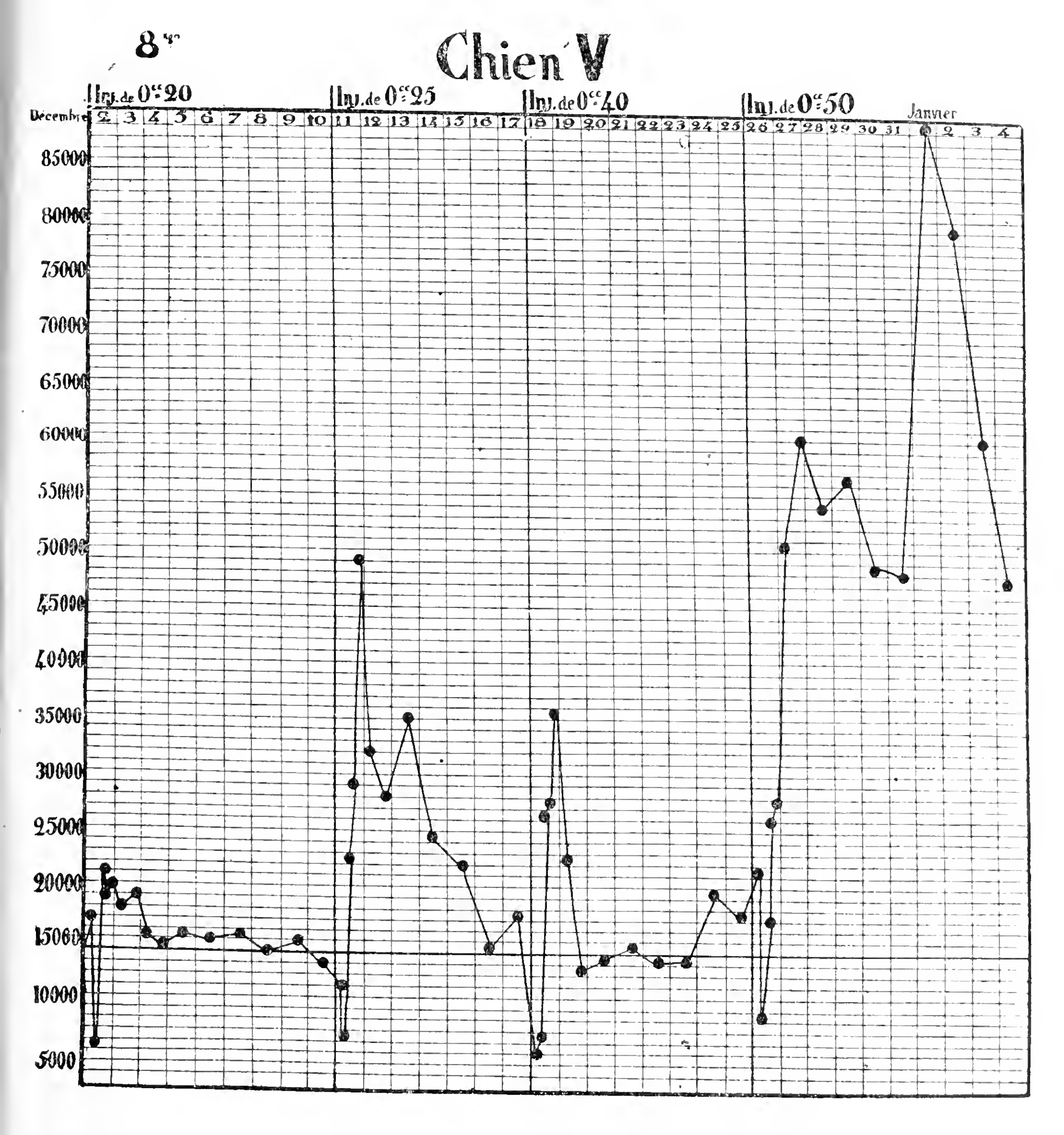


Fig. 5. — Courbe leucocytaire chez un chien (chien V) ayant reçu 4 injections de vaccin TAB chauffé.

Nous avons, pour cela, utilisé seulement le vaccin TAB chauffé.

Un chien (chien V), de 8 kilogrammes, reçoit successivement sous la peau, à 8 ou 10 jours d'intervalle, 0 c.c. 20, 0 c.c. 25, 0 c.c. 40, 0 c.c. 50 de vaccin ; un autre chien (chien VI), de 11 kil. 500 : 0 c.c. 25, 0 c.c. 30, 0 c.c. 50, 0 c.c. 60.

Les examens de sang sont faits le jour de l'injection, de deux heures en deux heures (plus fréquemment que chez les chiens précédents).

Les figures 5 et 6 montrent les courbes leucocytaires.

Pas de symptômes locaux, ni généraux.

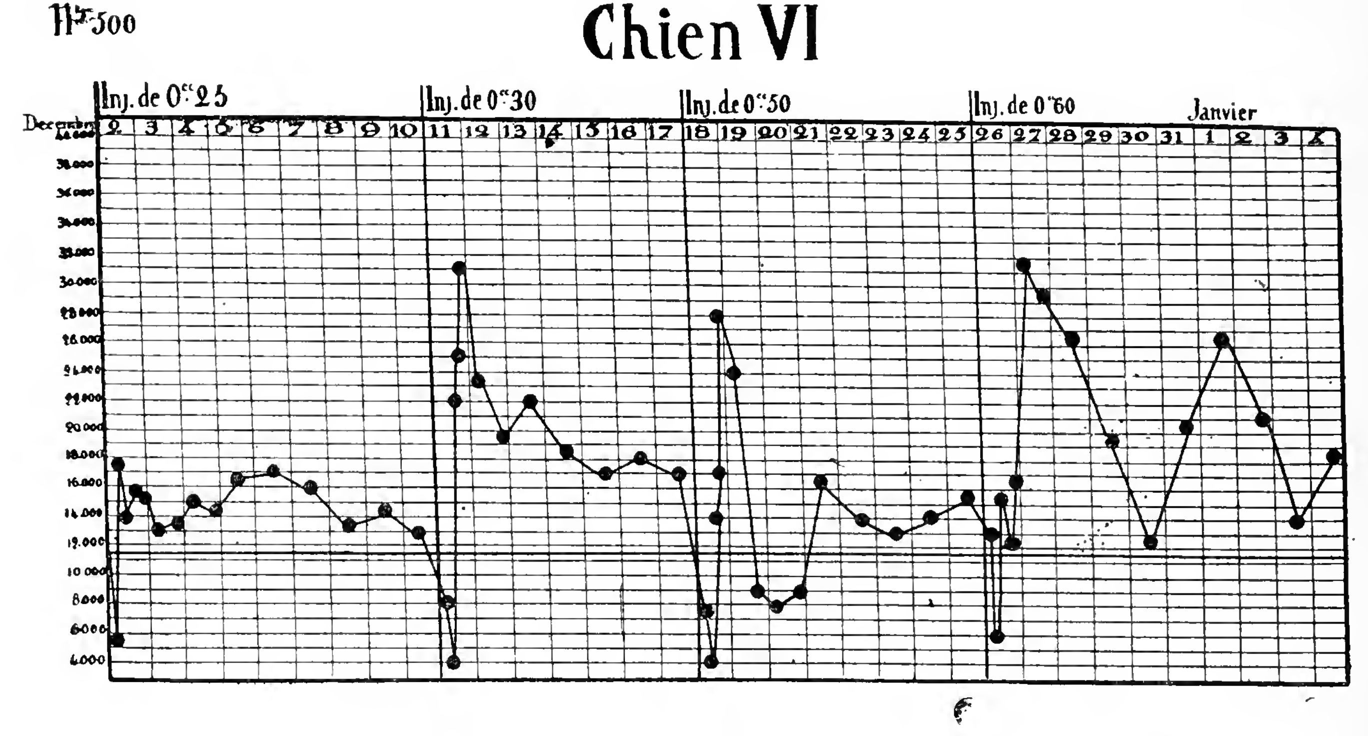


Fig. 6. — Courbe leucocytaire chez un chien (chien VI) ayant reçu 4 injections de vaccin TAB chauffé.

Les numérations ayant été faites, les jours d'injection, toutes les deux heures (alors que, dans les expériences précédentes, elles n'avaient eu lieu que deux fois dans la journée), ont permis de mieux observer les symptômes du début.

Le tableau I indique les modifications qualitatives spéciales à chaque groupe de leucocytes chez le chien V. Les chiffres obtenus chez le chien VI étaient absolument comparables.

Tableau I. — **Modifications qualitatives des leucocytes.**
(Chien V, 8 kilogrammes.)

	LEUCOCYTOSE totale	POLYNUCLÉAIRES neutrophiles	POLYNUCLÉAIRES éosinophiles	POLYNUCLÉAIRES basophiles	MONONUCLÉAIRES	GRANDS ET PETITS lymphocytes	INTERMÉDIAIRES
	14.746	71	6	0	0	19	4
2 décembre 1916, 7 h. 45. Injection de 0 c.c. 20 de vaccin TAB chauffé :							
9 h. 45	18.735	70	3	0	0	21	6
11 h. 45	7.494	68	4	0	2	19	7
13 h. 45	22.542	78	2	0	0	18	2
15 h. 45	19.984	80	3	0	1	15	1
17 h. 45	20.608	80	2	0	1	15	2
3 décembre	18.735	71	0	0	1	24	4
4 décembre matin	16.602	70	4	0	0	21	5
10 décembre	13.863	74	4	0	2	18	2
11 décembre, 7 h. 45. Injection de 0 c.c. 25 de vaccin TAB chauffé :							
9 h. 45	12.237	70	2	0	5	21	2
11 h. 45	7.681	70	5	0	6	18	1
13 h. 45	23.720	70	3	0	3	21	3
15 h. 45	29.976	84	1	0	1	14	0
17 h. 45	49.335	82	4	0	0	14	0
12 décembre matin	32.786	81	2	0	1	15	1
13 décembre	35.908	67	1	0	1	30	1
14 décembre	25.480	57	2	0	0	40	1
17 décembre	17.798	66	5	0	3	24	2
18 décembre, 7 h. 15. Injection de 0 c.c. 40 de vaccin TAB chauffé :							
9 h. 45	4.996	62	11	2	6	14	4
11 h. 45	7.806	70	5	0	1	23	1
13 h. 45	28.727	74	2	0	2	21	1
15 h. 45	29.229	77	3	0	1	18	1
17 h. 45	36.720	80	3	0	1	16	0
19 décembre matin	23.418	70	4	1	1	24	0
20 décembre	14.675	70	2	0	2	25	1
25 décembre	18.736	64	5	0	1	27	3
26 décembre, 7 h. 45. Injection de 0 c.c. 50 de vaccin TAB chauffé :							
9 h. 45	22.794	64	5	2	0	25	4
11 h. 45	9.928	63	9	0	2	23	3
13 h. 45	18.110	62	8	0	0	26	4
15 h. 45	29.351	67	9	0	0	19	5
17 h. 45	30.600	68	0	0	0	31	1
27 décembre matin	51.209	79	9	1	0	19	2
28 décembre	56.829	76	2	0	1	18	4
1er janvier 1917	89.303	77	0	0	0	16	7
2 janvier.	80.238	80	1	1	0	17	1
4 janvier.	48.398	77	3	0	0	17	3

1° La réaction est moins accusée après la première injection, avec les doses proportionnelles à celles employées chez l'homme, qu'avec les doses fortes.

2° Par contre, la 3e injection donne une réaction plus accusée qu'avec les doses fortes, comparable à celle de la seconde injection chez le même chien.

La chute de l'hyperleucocytose, après la 3e injection, est brusque et s'accompagne de leucopénie, fait qui ne s'observe pas après les deux premières, mais qui rappelle les réactions consécutives aux deux premières injections après les doses fortes (chien I et II).

3° L'hyperleucocytose, après la 4e injection, persiste longtemps et de façon irrégulière, comme désordonnée, phénomène déjà observé avec les doses fortes, mais à un moindre degré (1).

4° Après chaque injection, on observe vers la 2e ou la 4e heure une phase de leucopénie qui ne manque jamais, mais disparaît rapidement (6e heure), pour faire place à l'hyperleucocytose.

5° Pendant la courte période de leucopénie, la formule leucocytaire est peu troublée.

6° Les modifications observées pendant la période d'hyperleucocytose sont de même ordre que celles observées chez les chiens I et II : augmentation des polynucléaires neutrophiles, diminution des lymphocytes (polynucléose).

7° Après chaque injection, à la période d'hyperleucocytose et de polynucléose succède une période de leucocytose normale ou de leucopénie avec mononucléose.

8° La formule paraît irrégulière, comme la courbe générale, après la 4e injection.

9° Après la 3e injection, on note une poussée considérable d'hématoblastes. Il faut se souvenir, à ce propos, que Tonnel a observé la diminution des globules rouges après les injections vaccinales.

(1) Le chien V est mort le 15 janvier, probablement d'une infection intercurrente. A partir du 1er janvier, la leucocytose ne doit pas être mise au compte de la vaccination.

II. — AGGLUTININES

La preuve que l'inoculation à un même animal d'un mélange de plusieurs microbes d'espèces différentes fait apparaître dans son organisme des anticorps spécifiques pour chacun d'eux a été fournie pour la première fois par Widal et Sicard, en 1897 (1). Widal apportait de nouvelles preuves de ce fait au Congrès de Montpellier, en 1902 (2).

Castellani a confirmé le fait (3), qui est aujourd'hui classique.

Dans une communication à l'Académie de Médecine, le 10 août 1915, Widal (4) montrait que, chez les hommes, ayant reçu sous la peau du vaccin TAB chauffé, se développent les anticorps propres à chacun des 3 microbes injectés. L'agglutinine du B. typhique agit en général de façon plus précoce et plus intense que les agglutinines des B. paratyphiques.

Nous avons recherché le taux du pouvoir agglutinant du sérum chez les chiens I à IV, ayant reçu de fortes doses de vaccin TAB, soit chauffé, soit à l'éther.

I. — *Vaccin chauffé*. Il s'agit des deux chiens I et II déjà étudiés plus haut, au point de vue de la leucocytose.

Les figures 7 et 8 donnent les courbes du pouvoir agglutinant pour les 3 bacilles.

Les tableaux suivants indiquent les chiffres. Le signe + indique une agglutination complète, le signe ± une agglutination incomplète, le signe — l'absence de toute agglutination.

(1) Widal et Sicard, Etude sur le séro-diagnostic et sur les réactions agglutinantes chez les typhiques. Ces *Annales*, mai 1897, t. XI, p. 353.

(2) Widal, Les associations microbiennes dans l'organisme, chap. VII. *Congrès de Montpellier*, 1902.

(3) Castellani, Die Agglutination bei gemischter Infectionen und die Diagnose der letzteren. *Zeits. für Hygiene und Infectionskrankheiten*, 1902, t. XI. p. 1.

(4) Widal, Etudes sur les vaccinations mixtes antityphoïdiques et antiparatyphoïdiques. *Bull. de l'Ac. de Médecine*, 10 août 1915 ; *Presse Médicale*, 19 août 1915, p. 305.

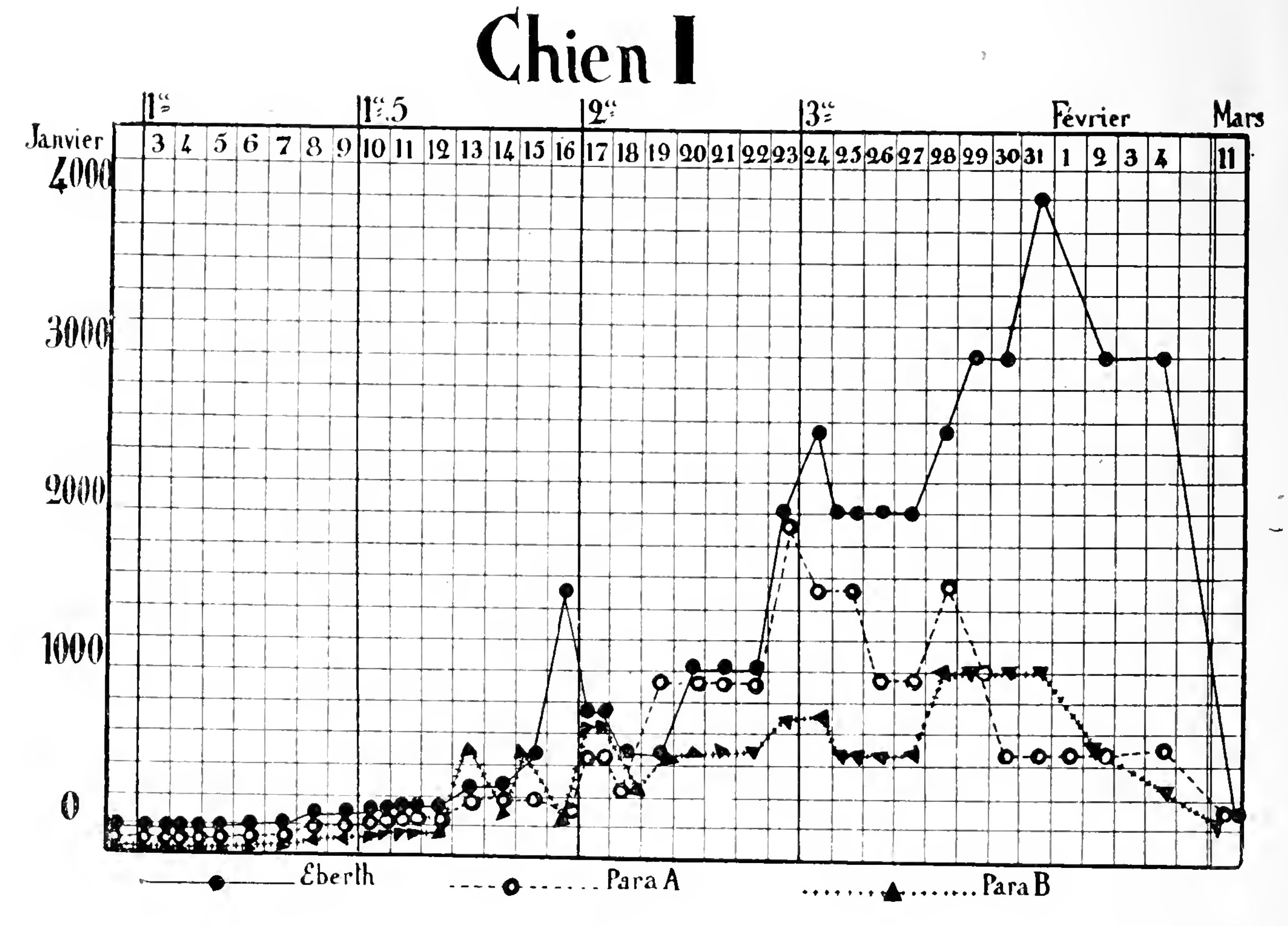


Fig. 7. — Courbe des agglutinines chez un chien (chien I) ayant reçu 4 injections de vaccin TAB chauffé.

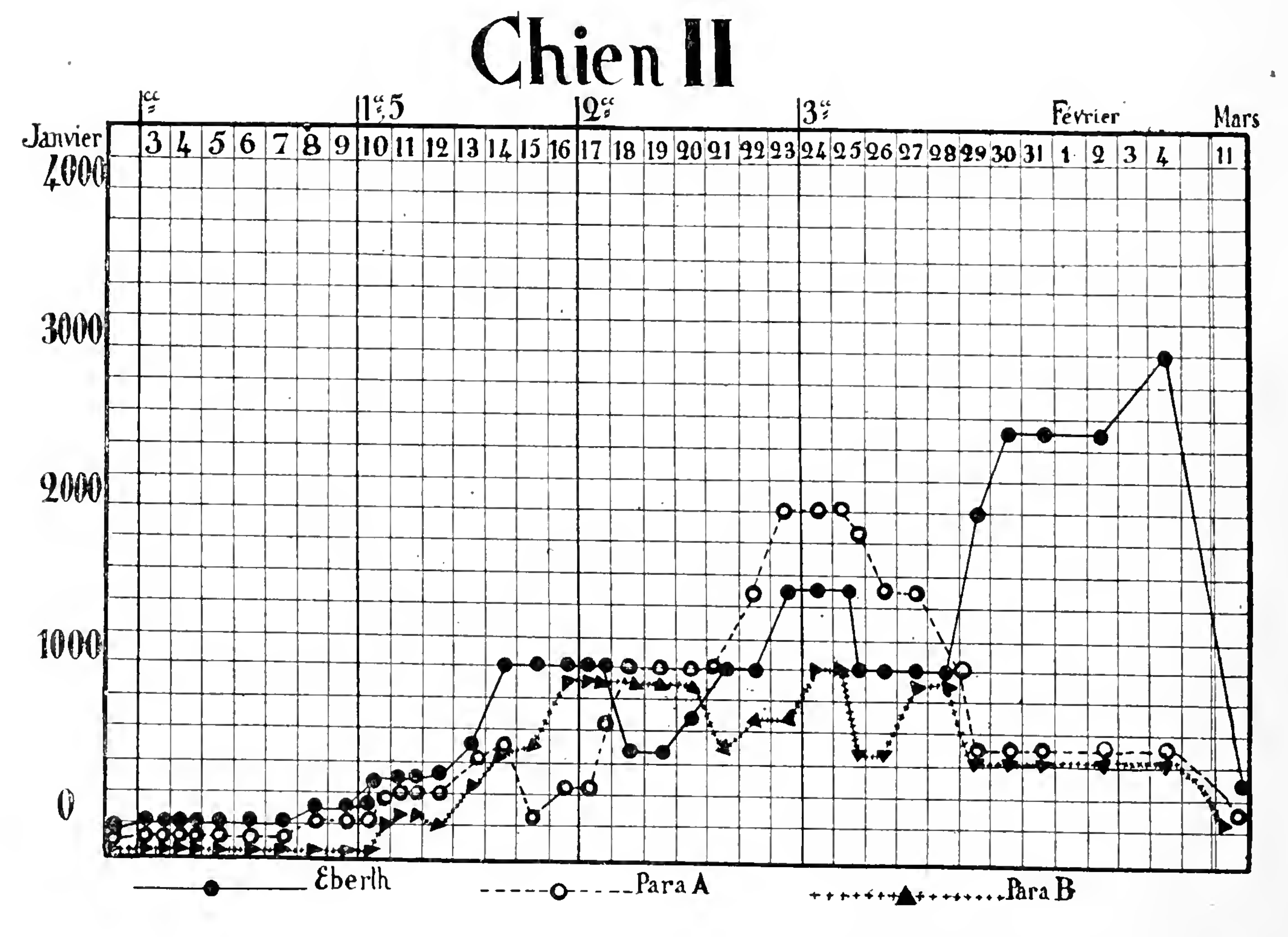


Fig. 8. — Courbe des agglutinines chez un chien (chien II) ayant reçu 4 injections de vaccin TAB chauffé.

Tableau II. — **Taux d'agglutination chez un chien** (chien I, 8 kilogrammes), **ayant reçu 4 injections de vaccin TAB chauffé.**

	BACILLE D'ÉBERTH	PARATYPHIQUE A	PARATYPHIQUE B
29 décembre 1915	— 20	— 20	— 20
3 janvier 1916, 8 h. Injection de 1 c.c. de vaccin :			
17 heures	— 20	— 20	— 20
4 janvier, matin	— 20	— 20	— 20
6 janvier, soir	— 20	— 20	— 20
6 janvier	— 20	— 20	— 20
10 janvier, 8 heures. Injection de 1 c.c. 1/2 de vaccin :			
11 heures	+ 50 ± 100 — 250	+ 20 ± 50 — 100	+ 50 — 100
17 heures	+ 50 ± 100 — 250	+ 20 ± 50 — 100	+ 50 ± 100 — 250
11 janvier, matin	+ 50 ± 100 — 250	+ 20 ± 50 — 100	+ 50 ± 100 — 250
11 janvier, soir	+ 50 ± 100 — 250	+ 20 ± 50 — 100	+ 50 ± 100 — 250
12 janvier	+ 100 ± 250	+ 50 ± 100 — 250	+ 100 — 250
17 janvier, 8 heures. Injection de 2 c.c. de vaccin.			
21 janvier	+ 500 ± 1.000 — 1.500	+ 500 ± 1.000 — 1.500	+ 250 ± 500 — 750
22 janvier	+ 750 ± 1.000 — 1.500	+ 500 ± 1.000 — 1.500	+ 250 ± 500 — 750
24 janvier, 8 heures. Injection de 3 c.c. de vaccin.			
26 janvier	+ 1.500 ± 2.000 — 2.500	+ 750 ± 1.500 — 1.500	+ 250 ± 500 — 750
30 janvier	+ 2.500 ± 3.000 — 4.000	+ 250 ± 500 — 750	+ 250 ± 1.000 — 1.500
2 février	+ 2.500 ± 3 000 — 4.000	+ 250 ± 500 — 750	+ 250 ± 500 — 750

TABLEAU III. — **Taux d'agglutination chez un chien** (chien II, 14 kilogrammes), **ayant reçu 4 injections de vaccin TAB chauffé.**

	BACILLE D'ÉBERTH	PARATYPHIQUE A	PARATYPHIQUE B
31 décembre 1915.	— 20	— 20	— 20
3 janvier 1916, 8 heures. Injection de 1 c. c. de vaccin chauffé triple :			
11 heures	± 20 — 50	— 20	— 20
4 janvier, matin	± 20 — 50	— 20	— 20
4 janvier, soir	± 20 — 50	— 20	— 20
5 janvier.	— 20	— 20	— 20
7 janvier.	— 20	— 20	— 20
10 janvier, 8 heures. Injection de 1 c.c. 1/2 de vaccin chauffé triple.			
11 heures	+ 100 ± 250 — 50	+ 50 ± 100 — 250	± 20 — 50
11 janvier, matin	+ 250 ± 500 — 750	+ 100 ± 250 — 500	+ 50 ± 100 — 250
15 janvier.	+ 500 ± 1.000 — 1.500	+ 50 ± 100 — 250	+ 250 ± 500 — 750
17 janvier, 8 heures. Injection de 2 c.c. de vaccin chauffé triple.			
21 janvier.	+ 500 ± 1.000 — 1.500	+ 750 ± 1.000 — 1.500	+ 250 ± 500 — 750
22 janvier	+ 1.000 — 1.500	+ 750 ± 1.000 — 1.500	± 750 — 1.000
24 janvier, 8 heures. Injection de 3 c.c. de vaccin chauffé triple.			
26 janvier.	± 1.000 — 2.000	+ 1.000 ± 1.500 — 2.000	± 500 — 1.000
28 janvier.	+ 1.000 — 1.500	± 1.000 — 1.500	± 500 ± 1.000
31 janvier.	+ 2.000 ± 2.500 — 3.000	+ 250 ± 500 — 750	+ 250 ± 500 — 1.000
2 février	+ 2.000 ± 2.500	+ 250 ± 500 — 750	+ 250 ± 500 — 750

On voit que les diverses propriétés agglutinantes commencent à apparaître vers le 6e jour après la première injection. Le taux de l'agglutination typhique est plus élevé. L'agglutination paratyphique B est en retard et présente le taux le plus bas.

Entre la seconde et la troisième injection, le taux des 3 agglutinines monte, l'agglutinine typhique étant en tête.

A la veille de la quatrième injection, vers le 21e jour, le taux des agglutinines s'élève, celui de l'agglutinine paratyphique A pouvant dépasser celui de l'agglutinine typhique. L'agglutinine paratyphique B est toujours la plus faible.

Après la 4e injection, les agglutinines paratyphiques A et B baissent rapidement, tandis que l'agglutinine typhique continue à monter. Cette dernière a presque disparu deux mois après la première injection.

II. — *Vaccin à l'éther*. Il s'agit des deux chiens III et IV, déjà étudiés plus haut et ayant reçu autant de vaccin à l'éther que les chiens I et II ont reçu de vaccin chauffé.

Les figures 9 et 10 donnent les courbes des 3 agglutinines.

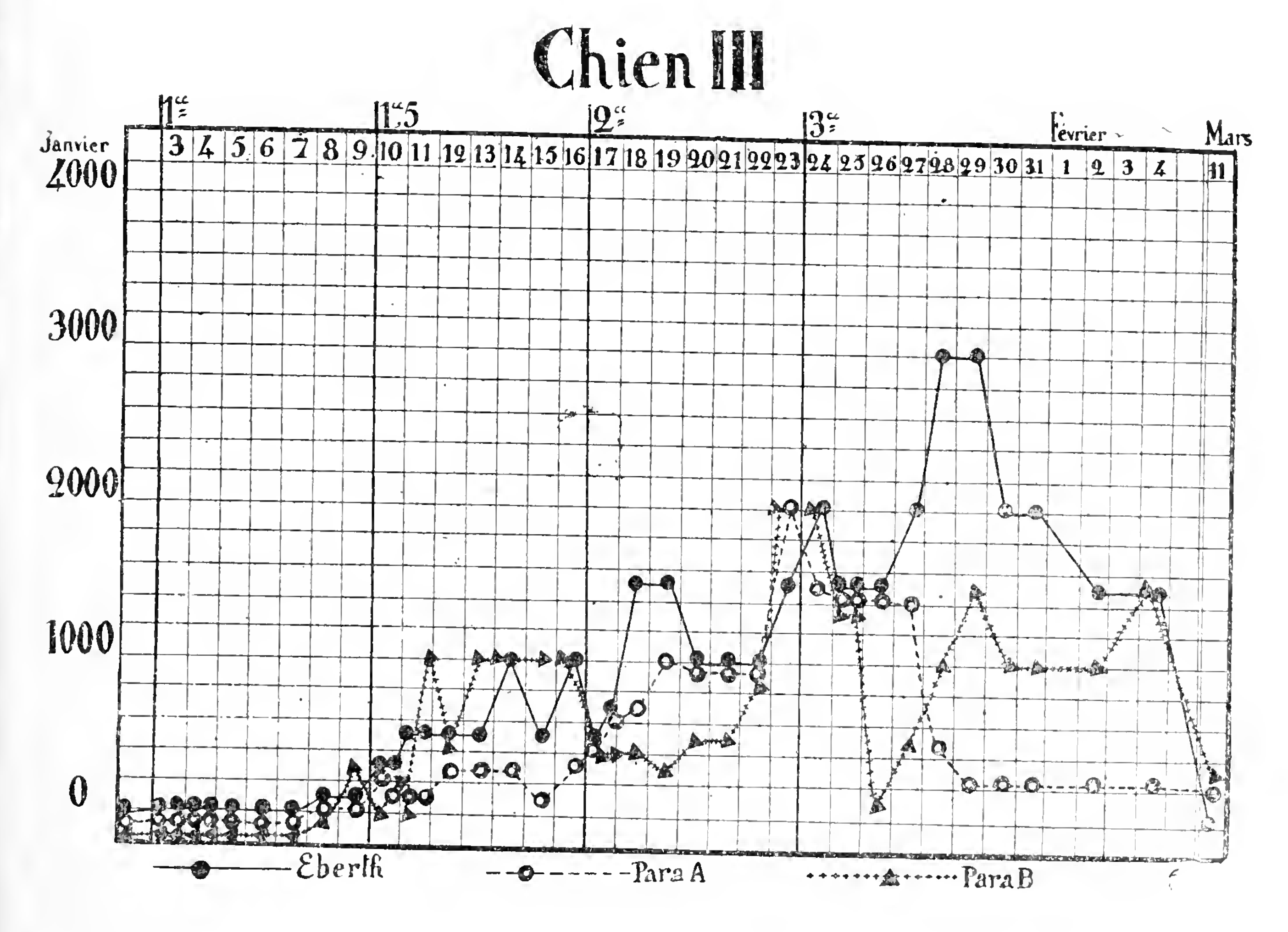


Fig. 9. — Courbe des agglutinines chez un chien (chien III) ayant reçu 4 injections de vaccin TAB à l'éther.

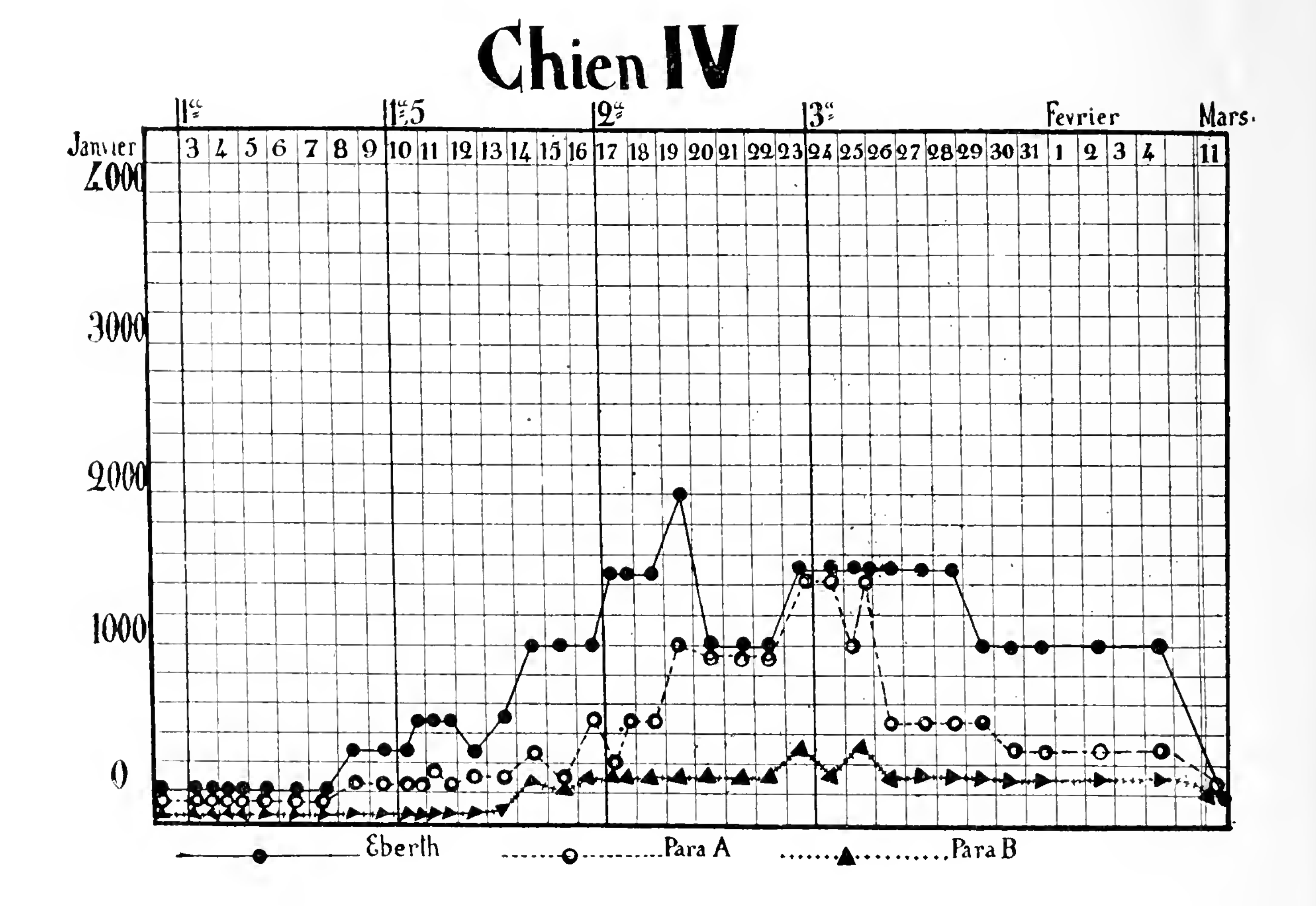


Fig. 10. — Courbe des agglutinines chez un chien (chien IV) ayant reçu 4 injections de vaccin TAB à l'éther.

Les deux tableaux suivants indiquent les chiffres.

Les résultats sont très comparables à ceux obtenus avec le vaccin chauffé. Cependant, le taux de l'agglutinine typhique est moins élevé et s'abaisse plus rapidement.

Un mois après la première injection, il n'est plus que de 500 et 1.000, au lieu de 2.000 et 2.500 avec le vaccin chauffé.

Deux mois après la première injection il n'est plus que de 20 au lieu de 50 et 100.

Tableau IV. — **Taux d'agglutination chez un chien** (chien III, 11 kilogrammes), **ayant reçu 4 injections de vaccin TAB à l'éther.**

	BACILLE D'ÉBERTH	PARATYPHIQUE A	PARATYPHIQUE B
29 décembre 1915	— 20	— 20	— 20
3 janvier 1916, 8 heures. Injection de 1 c.c. de vaccin à l'éther :			
11 heures	± 20 — 50	— 20	— 20
4 janvier, matin	± 20 — 50	— 20	— 20
4 janvier, soir	— 20	— 20	— 20
5 janvier	— 20	— 20	— 20
6 janvier	— 20	— 20	— 20
10 janvier, 8 heures. Injection de 1 c.c. 1/2 de vaccin à l'éther.			
11 janvier, matin	+ 250 ± 500 — 750	+ 50 ± 100 — 250	+ 100 — 250
13 janvier	+ 250 ± 500 — 750	+ 100 ± 250 — 500	+ 250 ± 1.000 — 1.500
15 janvier	+ 250 ± 500 — 1.000	+ 50 ± 100 — 250	+ 250 ± 1.000 — 1.500
16 janvier	+ 500 ± 1.000 — 1 500	+ 100 ± 250 — 500	+ 500 ± 1.000 — 1.500
17 janvier, 8 heures. Injection de 2 c.c. de vaccin à l'éther.			
21 janvier	+ 500 ± 1.000 — 1.500	+ 500 ± 1.000 — 1.500	+ 250 ± 500 — 750
24 janvier, 8 heures. Injection de 3 c.c. de vaccin à l'éther.			
25 janvier, matin	+ 1.000 ± 1.500 — 2.000	± 1.000 ± 1.500 — 2.000	+ 500 — 1.500
25 janvier, soir	+ 750 ± 1.500 — 2.000	± 1.000 ± 1.500 — 2.000	+ 500 ± 1.500 — 2.000
28 janvier	+ 1.500 ± 3.000 — 4.000	± 500 — 750	+ 500 ± 1.000 — 1.500
31 janvier	+ 1.500 ± 2.000 — 3.000	± 100 ± 250 — 500	+ 500 ± 1.000 — 1.500

TABLEAU V. — **Taux d'agglutination chez un chien** (chien IV, 12 kilogrammes), **ayant reçu 4 injections de vaccin TAB** à l'éther.

	BACILLE D'ÉBERTH	PARATYPHIQUE A	PARATYPHIQUE B
29 décembre 1915	— 20	— 20	— 20
3 janvier 1916, 8 heures. Injection de 1 c.c. de vaccin à l'éther :			
11 heures	± 20 — 50	— 20	— 20
17 heures	— 20	— 20	— 20
4 janvier, matin	— 20	— 20	— 20
4 janvier, soir	— 20	— 20	— 20
6 janvier	— 20	— 20	— 20
8 janvier	+ 100 ± 250 — 500	± 20 — 50	— 20
10 janvier, 8 heures. Injection de 1 c.c. 1/2 de vaccin à l'éther :			
11 heures	+ 100 ± 250 — 500	+ 20 ± 50 — 100	— 20
11 janvier, matin	+ 250 ± 500 — 750	+ 20 ± 50 — 100	± 20 — 50
11 janvier, soir	+ 250 ± 500 — 750	+ 20 ± 100 — 250	— 20
15 janvier	+ 500 ± 1.000 — 1.500	+ 50 ± 100 — 250	+ 20 ± 50 — 100
17 janvier, 8 heures. Injection de 2 c.c. de vaccin à l'éther :			
11 heures	+ 500 ± 1.500 — 2.000	+ 250 ± 550 — 750	± 20 — 50
18 janvier	+ 1.000 ± 1.500 — 2.000	+ 100 + 500 — 750	+ 20 ± 50 — 100
21 janvier	+ 500 ± 1.000 — 1.500	+ 250 ± 1.000 — 1.500	+ 20 — 50
22 janvier	+ 500 ± 1.000 — 1.500	+ 500 ± 1.000 — 1.500	+ 50 — 100
24 janvier, 8 heures. Injection de 3 c.c. de vaccin à l'éther :			
17 heures	+ 500 ± 1.500 — 2.000	+ 500 ± 1.500 — 2.000	+ 100 — 250
27 janvier	+ 500 ± 1.500 — 2.000	+ 250 ± 500 — 750	+ 50 ± 100 — 250
28 janvier	+ 500 ± 1.500 — 2.000	+ 250 ± 500 — 1.000	+ 50 ± 100
29 janvier	+ 500 ± 1.500 — 2.000	+ 100 ± 500 — 750	+ 50 ± 100
31 janvier	+ 500 ± 1.000 — 1.500	+ 50 ± 250 — 500	+ 50 ± 100
2 février	+ 500 ± 1.000 — 1.500	+ 100 ± 250 — 500	+ 100 ± 250 — 500
4 février	+ 500 ± 1.000 — 1.500	+ 100 ± 250 — 500	+ 100 ± 250 — 500
8 avril	+ 20 — 50	+ 20 — 50	20

III. — CONCLUSIONS

Les résultats observés peuvent se résumer ainsi :

1° *Hyperleucocytose. — Leucopénie. — L'hyperleucocytose* est constante après les injections de vaccin TAB (chauffé ou à l'éther). Elle est, en général, assez élevée, dépassant, dans la majorité des cas, le triple du chiffre normal des leucocytes. Elle est plus faible avec le vaccin à l'éther. L'animal se comporte donc comme l'homme.

Mais, si l'on fait des numérations rapprochées, pendant les premières heures qui suivent l'injection (chiens V et VI), on constate que cette hyperleucocytose est *précédée d'une leucopénie*, se produisant de 2 à 4 heures après l'injection.

L'injection sous-cutanée de vaccins antityphiques produit les mêmes effets que l'injection intraveineuse de bacilles typhiques vivants [F. Gay et E.-J. Claypole, chez le lapin (1), et A. Rodet, chez le cheval (2)]. Ces auteurs ont observé une leucopénie immédiate suivie d'hyperleucocytose (3).

Ce phénomène n'est d'ailleurs pas particulier aux injections de vaccins antityphiques ou de bacilles typhiques. On sait, depuis longtemps, que l'injection d'un antigène quelconque produit une hyperleucocytose consécutive. D'après Sacconaghi (4) les injections sous-cutanées de sérum de cheval, chez le lapin, produisent aussi de la leucopénie suivie d'hyperleucocytose. Simonds et Baldauf (5) constatent que l'injection de cul-

(1) F. Gay et Edith J. Claypole, Specific and Extreme Hyperleucocytosis follwing the Injection of *Bacillus typhosus* in immunized Rabbits. *Journal Americ Med. Assoc.*, t. LX, 1913, p. 1950.

(2) A. Rodet, Observations sur les variations des éléments figurés du sang chez les chevaux fournisseurs de sérum antityphique. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXIV, 1913, p. 80.

(3) Les résultats de ces auteurs répondent à la question posée par Hallion et Méry (*loc. citato*) qui se demandent si l'hyperleucocytose n'est pas liée à la réaction inflammatoire locale et si elle ne serait pas modifiée dans le cas où l'injection serait intraveineuse au lieu d'être interstitielle.

(4) Sacconaghi, *Leucocitosi*; *organi leucopoietici*; *immunità*. Morgagni. Milan, 1905, p. 282.

(5) Simonds et Baldauf, The relation of the opsonic Index to the Leukopenia and the Leukocytosis following Injections of heated bacterial Cultures. *Journ. of infectious Diseases*, 1909, p. 38.

tures chauffées de *Bacillus coli* ou de bacille pyocyanique, dans la cavité péritonéale du lapin, détermine une rapide leucopénie, dans les 20 minutes à 5 heures, suivie d'hyperleucocytose, dans les deux à trois jours, pouvant atteindre 22.000, le taux normal étant de 12.000. On pourrait multiplier les exemples.

La leucopénie peut s'observer une seconde fois, après la période d'hyperleucocytose, surtout si l'on a injecté de fortes doses (chiens I, II, III, IV).

2° *Variations de l'hyperleucocytose suivant les injections.* — L'hyperleucocytose consécutive aux deux premières injections est très comparable, si on a injecté de fortes doses (chiens I, II, III, IV); elle est plus considérable après la seconde, si on injecte des doses faibles (chiens V et VI).

Après la 3e injection, l'hyperleucocytose est beaucoup moins accusée, parfois à peine marquée, si on a injecté de fortes doses (chiens I, II, III, IV). Si les doses injectées sont faibles (chiens V et VI), l'hyperleucocytose est plus élevée, moindre toutefois que celle qui suit la 2e injection, et tombe rapidement. La leucopénie qui suit l'hyperleucocytose est toujours plus marquée après la 3e injection qu'après les autres. On peut faire la même remarque sur la courbe publiée par Hallion et Méry (1).

Les réactions consécutives à la 4e injection sont très variables; l'hyperleucocytose, d'ailleurs toujours plus élevée qu'après la 3e injection, ne se produit plus aussi régulièrement; elle est souvent retardée, précédée et suivie de variations inattendues. Elle n'est pas suivie de leucopénie. Il semble qu'à cette dernière injection, l'organisme réagisse d'une façon pour ainsi dire désordonnée.

F. Gay et Edith J. Claypole (2) ont montré qu'à la suite de la réinjection de bacilles typhiques chez les lapins immunisés, l'hyperleucocytose est beaucoup plus marquée que celle qu'on observe chez les lapins neufs. Le phénomène serait spécifique : lorsqu'on injecte à des lapins immunisés un antigène autre que celui qui a servi à leur préparation, ils réagiraient comme des lapins neufs.

(1) Hallion et Méry, *Loc. cit.*

(2) F. Gay et Edith J. Claypole, Specific Hyperleucocytosis. Studies in typhoïd Immunization. *Arch. of intern. Medicine*, 1914, t. XIV, p. 662-670.

Les observations de nos chiens V et VI, injectés avec de faibles doses, peuvent être interprétées dans ce sens. La première injection (sur des chiens neufs) produit une hyperleucocytose atteignant respectivement 22.500 et 17.400 leucocytes. Après la seconde injection (sur des chiens en partie immunisés) l'hyperleucocytose est plus élevée, atteignant 49.300 et 31.000 leucocytes au millimètre cube. Le phénomène est beaucoup moins net dans nos deux premières séries (chiens I à IV, ayant reçu de fortes doses), encore appréciable chez les chiens III et IV.

D'après Gay et Claypole, le mécanisme de cette hyperleucocytose se rapprocherait de l'action des tropines contenues dans le sang des animaux immunisés. Ces auteurs ont pu, en effet, provoquer une hyperleucocytose aussi forte, en injectant à des lapins neufs des bacilles typhiques ou des hématies sensibilisés.

Cependant, s'il en était ainsi, la réaction leucocytaire devrait croître progressivement à mesure qu'on répète les injections. Il n'en est rien. L'hyperleucocytose consécutive à la 3e injection est toujours moins élevée que la précédente. Après la 4e, les réactions leucocytaires sont plus intenses qu'après la 3e, mais sont très irrégulières.

3° *Polynucléose.* — L'hyperleucocytose consécutive aux injections porte surtout sur les polynucléaires neutrophiles. Les éosinophiles ne sont pas modifiés. Le taux moyen de 70 p. 100 peut atteindre 91 p. 100 (chien I). Cette hyperpolynucléose neutrophile suit, dans ses grands traits, une courbe parallèle à celle de l'hyperleucocytose totale. Elle est ordinairement très accusée pendant trois ou quatre jours, ayant son maximum le premier jour. Il en est de même chez l'homme.

4° *Mononucléose.* — A la phase de polynucléose succède ordinairement une phase de mononucléose (lymphocytose) correspondant, comme dans la fièvre typhoïde, à la période de leucopénie. Les lymphocytes, de 14 à 20 p. 100, atteignent fréquemment 40 p. 100 et même davantage.

Le parallélisme entre la lymphocytose et la leucopénie est très régulier après les premières injections; après la 4e injection, on n'observe plus de régularité.

5° *Myélocytose.* — J. Courmont et A. Devic ont noté, chez l'homme, une myélocytose neutrophile légère, accompagnant

la polynucléose. Chez le chien, on n'observe que quelques rares myélocytes neutrophiles, surtout à la suite de la seconde injection. En somme, chez le chien, myélocytose très faible, à peine ébauchée et inconstante.

6° Au point de vue des *agglutinines*, nos expériences confirment en tous points les conclusions de Widal.

7° *Résumé et réflexions*. — En résumé, chez le chien : leucopénie immédiate, puis hyperleucocytose (polynucléose neutrophile avec myélocytose neutrophile très légère) puis leucopénie avec mononucléose (lymphocytose). Tels sont les phénomènes qu'on observe après chaque injection.

Mais la réaction leucocytaire ne présente plus à partir de la 3e injection la régularité observée après les deux premières. Cette remarque plaide en faveur de la réduction à deux du nombre des injections vaccinales, en augmentant les doses de chacune d'elles, surtout de la seconde.

(Remis le 20 janvier 1917.)

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

Ouvrage reçu par les ANNALES :

The Mortality FROM CANCER THROUGHOUT THE WORLD

by

Frederick L. HOFFMAN, LL. D.,

F. S. S., F. A. S. A.

Statistician The Prudential Insurance Company of America; Chairman Committee on Statistics, American Society for the Control of Cancer; Member American Association for Cancer Research; Associate Fellow American Medical Association: Associate Member American Academy of Medicine, etc., etc.

NEWARK, NEW-JERSEY : The Prudential Press

1915

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXXI. — 1917. Mai. — N° 5.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX



PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : 18 francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : 20 francs.

—

SOMMAIRE DU N° 5

Pages.

BULLETIN

DE LA

Société de Pathologie exotique

Siège de la Société : Institut Pasteur, Paris

Paraît 10 fois par an, 15 jours après chaque séance qui a lieu le 2e mercredi du mois, sauf en août et septembre.

Le volume de 1915, qui atteint 800 pages, avec figures dans le texte et planches hors texte, ne le cède en rien, malgré les circonstances, à ceux des années précédentes.

PRIX DE L'ABONNEMENT :

France : **18** fr. — Union postale : **20** fr.

31e ANNÉE MAI 1917 N° 5

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

TRAITEMENT BACTÉRIOTHÉRAPIQUE DE LA LYMPHANGITE ULCÉREUSE

par C. TRUCHE

Parmi les affections qui atteignent notre cavalerie dans la campagne actuelle, les lymphangites occupent une place très importante. Tous les vétérinaires se trouvent aux prises avec ces graves maladies, qui fournissent un fort contingent d' « indisponibles » d'abord, de « piliers d'hôpital » ensuite. La longueur du traitement, les soins nombreux et répétés qu'il exige, mettent à l'épreuve la science et la patience du personnel médical.

Les deux principaux types, actuellement connus, sont la lymphangite épizootique, dont nous ne nous occuperons pas ici et la lymphangite ulcéreuse, à laquelle nous avons opposé une thérapeutique simple et efficace, comme on va le voir.

Rappelons que si, pour cette dernière affection, le traitement local donne quelques résultats, ceux-ci ne sont obtenus qu'après de longs mois et une récidive reste toujours possible. Il faut compter également sur des guérisons incomplètes, laissant à leur suite de « grosses jambes », c'est-à-dire la réforme, voire l'abatage — en un mot, de très fortes pertes d'argent.

Le bacille de la lymphangite ulcéreuse (b. de Preisz-Nocard).

Le bacille de Preisz-Nocard, dont nous nous bornerons à rappeler les caractères essentiels, jouit d'une grande ubiquité. Il s'attaque à diverses espèces animales, déterminant : chez le cheval (en dehors de la lymphangite ulcéreuse), l'acné contagieuse, des abcès rénaux...; chez le mouton, une véritable pseudo-tuberculose, des altérations caséeuses viscérales et ganglionnaires... ; chez le bœuf et le porc, des lésions splanchniques.

Nous l'avons jadis rencontré chez le lapin (abcès « spontanés ») et la chèvre (abcès dus à la « sortie » du microbe), au cours de l'immunisation contre la ricine (ces *Annales*, t. XXVII, p. 226, 1913).

C'est un organisme qui « simule » le bacille diphtérique par sa morphologie et ses caractères de culture, mais s'en distingue radicalement par sa virulence et la nature de sa toxine, comme nous allons le rappeler en deux mots.

Virulence. — *Cobaye*. Sous la peau : abcès. Dans le péritoine : vaginalite, chez le mâle. Dans les veines : éruption pustuleuse généralisée, kératites, ostéopériostites, granulations ou nodules caséeux dans le foie, la rate, les poumons... Les recherches de Panisset (ces *Annales*, juin 1910), poursuivies au laboratoire de M. Nicolle, ont montré la grande activité du b. de Preisz-Nocard vis-à-vis du cobaye : certains échantillons l'infectent à des doses excessivement faibles.

Lapin. Dans les veines : pseudo-tuberculose généralisée.

Mouton. Sous la peau : abcès. Dans le poumon : pneumonie caséeuse (Sivori).

Cheval. Sous la peau : abcès. Dans une bosse sanguine : lymphangite (Nocard).

Toxine (Carré. M. Nicolle, Loiseau et Forgeot). — Toutes les fois qu'on injecte aux animaux de grandes quantités de germes, on tue rapidement par la toxine qu'ils contiennent et qui ne diffère pas de celle des filtrats. Cette toxine fait périr aisément le *cobaye*, le *lapin* et le *mouton*, même sous la peau. Les symptômes et les lésions observés n'ont rien de commun avec ceux que détermine le poison diphtérique.

Carré a obtenu, le premier, un *sérum antitoxique*, qui neutralise spécifiquement la toxine du b. de Preisz-Nocard. Le même auteur a isolé, de l'organisme de certains moutons infectés d'une façon bénigne et localisée, des échantillons totalement avirulents (qui se sont montrés également atoxiques — M. Nicolle, Loiseau et Forgeot).

Pouvoir antitoxique du sérum de chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse. Inutilité de ce pouvoir antitoxique.

M. Nicolle, Loiseau et Forgeot ont observé que le sérum des chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse (ou d'abcès rénaux) était doué d'un *pouvoir antitoxique spécifique*, égal ou même supérieur à celui des chevaux immunisés par Carré au moyen des filtrats. Ils ont basé, sur cette propriété, une méthode sûre et délicate de diagnostic (*toxino-diagnostic*), permettant de révéler l'infection à b. de Preisz-Nocard en l'absence de tout symptôme clinique (petits abcès du rein, bien tolérés). Pour les détails de la méthode, nous renvoyons au travail de Forgeot et Césari (ces *Annales*, t. XXVI, p. 102, 1912).

Si l'on met en parallèle la constatation d'un pouvoir antitoxique constant et le caractère de quasi incurabilité de la lymphangite, on peut affirmer que l'antitoxicité de leurs humeurs ne rend aucun service aux animaux atteints.

Absence de pouvoir antimicrobien dans le sérum des chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse. Indication d'un traitement bactériothérapique.

L'absence de tout pouvoir antimicrobien chez les chevaux malades (M. Nicolle, Loiseau et Forgeot) explique le caractère essentiellement rebelle de l'affection et conduit à essayer les méthodes bactériothérapiques. C'est ce qui avait été décidé, *à notre insu*, par M. Nicolle et Forgeot. Les circonstances ne leur ont pas permis de réaliser ce projet. Nous avons eu la même idée de notre côté et elle s'est montrée opportune, comme nous allons le prouver.

Choix d'un « vaccin ». Sa préparation. Son mode d'emploi.

Choix d'un vaccin.

Nous avons donné la préférence aux microbes tués par l'alcool-éther, d'une préparation et d'un usage très commodes.

Utilisés *couramment* au laboratoire depuis les travaux de M. Nicolle sur la morve (ces *Annales*, t. XX, p. 625, 698, 801, 1906), ils ont l'avantage d'éliminer la vie (c'est-à-dire la virulence) des germes, sans altérer leurs qualités antigènes (et même, dans une mesure souvent suffisante, leur toxicité). Avec ces « microbes alcool-éther », M. Nicolle et ses collaborateurs ont réussi, en effet, à préparer des sérums agglutinants et lytiques très efficaces, dont les propriétés ont été déjà mentionnées dans ces *Annales*, t. XXX, p. 363, 1916 (b. de Shiga) et t. XXXI, p. 73, 1917 (b. de Flexner) ou le seront ultérieurement.

Préparation.

Le b. de Preisz-Nocard, entretenu sur sérum coagulé, est ensemencé sur gélose à la pomme de terre, en boîte de Roux. On porte à l'étuve (37°) pendant vingt-quatre heures, puis on émulsionne le dépôt microbien obtenu dans l'eau physiologique. On centrifuge avec l'appareil de Jouan; on décante; on dilue le culot dans l'eau physiologique; on centrifuge une seconde fois et on décante finalement. Le dépôt est alors émulsionné soigneusement dans l'alcool ; on « allonge » peu à peu avec une nouvelle quantité d'alcool et on ajoute volume égal d'éther. On conserve pendant vingt-quatre heures en flacons bouchés (les germes se collectent alors au fond des flacons) ; on décante l'alcool-éther et on fait sécher les dépôts à 37° (appareil à dessiccation de Jouan), en boîtes de Petri stériles.

On obtient, de la sorte, une poudre facile à conserver et à doser. Pour préparer le « vaccin », on émulsionne soigneusement cette poudre dans l'eau physiologique, à raison de 1 centigramme pour 1 cent. cube de liquide; on répartit en ampoules et on porte cinq minutes à 100° (« stérilisation de sûreté » et destruction des restes de toxine. Cette dernière précaution est, pour ainsi dire, superflue, puisque les chevaux infectés sont immuns contre le poison).

Mode d'emploi.

On injecte le « vaccin » de préférence sous la peau de l'encolure, à la dose de 1 centigramme. On renouvelle ce traite-

ment tous les 8 jours, une ou deux fois encore, selon la gravité du cas.

Un léger engorgement local se manifeste le lendemain et disparaît rapidement. — *Réaction thermique faible* (0,5 à 1°). — *Aucune réaction générale.*

On peut voir « les boutons » se dessécher, la suppuration se tarir et les « cordes » disparaître après la seconde injection, mais la guérison suit d'ordinaire la troisième. Les membres atteints reprennent leur mobilité et la peau sa souplesse, dès que les lésions locales ont disparu. Les récidives, rares, cèdent à une nouvelle injection.

Résultats actuels du traitement bactériothérapique.

Premiers essais (dépôts de Belleville et Grenelle) :

Cheval n° 10812. Boutons et cordes, au membre P. G (diagnostic bactériologique). 3 injections, guérison en un mois.

Cheval n° 12117. Lymphangite très grave de toute la face externe du membre P. D. (diagnostic bactériologique). 3 injections, guérison.

(Ce cheval travaille depuis plus d'un an sans avoir eu la moindre récidive).

Cheval n° 10203. Boutons au canon P. D. (diagnostic bactériologique). 3 injections, guérison.

Cheval n° 10547. Lymphangite du genou A. D. (diagnostic bactériologique). 3 injections, guérison.

Cheval n° 11233. Boutons et cordes du membre A. G. (diagnostic bactériologique). 3 injections, guérison.

Essais ultérieurs, entrepris grâce à l'amabilité de M. le vétérinaire principal Jacoulet, dans un dépôt de chevaux malades :

Première série : 4 chevaux (n°s 7918, 7919, 7928, 7905). Lésions classiques, diagnostic bactériologique). 3 guérisons totales; une encore incomplète, mais très avancée.

Seconde série : 43 chevaux (pas d'examen bactériologique, mais lésions classiques). Résultats, peu après la 3e injection :

14 totalement guéris;
7 sans doute guéris ; n'offrent plus que des lésions *superficielles* dues, selon nous, au grattage que détermine la gale dont ils sont atteints;
10 incomplètement guéris (auront besoin d'une injection) :
6 moins améliorés (auront besoin de 2 injections);
3 morts d'affections diverses, au cours du traitement;
3 abattus pour vieillesse ou mauvais état général.

Dans cette seconde série, où le diagnostic bactériologique n'a pu être fait, figurent peut-être des sujets atteints d'une lymphangite à laquelle le b. de Preisz-Nocard demeure étranger. La majorité des cas se montrent cepen-

dant bel et bien authentifiés par le traitement, selon le vieil adage : *naturam morborum ostendunt curationes.*

Autres cas, traités avec succès, dans diverses parties de la France.

Nous conclurons que les méthodes bactériothérapiques, appliquées par nous au traitement de la lymphangite ulcéreuse, ont fourni des résultats positifs incontestables. Ces résultats sont intéressants non seulement au point de vue théorique et éloigné, mais encore au point de vue économique et immédiat.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES ALDÉHYDES DU VIN

par J. LABORDE,

Directeur-adjoint de la Station agronomique et œnologique de Bordeaux.

I. — Introduction.

L'existence de produits aldéhydiques dans les vins a été signalée tout d'abord par Dœbereiner, Liebig, Chancel, Magne-Lahens, etc. Berthelot, en 1863, admettait la formation d'aldéhydes par oxydation des alcools polyatomiques et leur attribuait un rôle dans le développement du bouquet. Pasteur, qui accepta cette théorie, y comprenait aussi l'aldéhyde acétique, que l'on trouve en proportions beaucoup plus importantes après un vieillissement prolongé de certains vins.

Depuis une vingtaine d'années, des travaux assez nombreux ont été faits sur la présence de l'aldéhyde acétique dans les liquides fermentés, en général, et dans le vin en particulier. Il en résulte que la formation et la disparition de cet aldéhyde peuvent être soumises à des causes d'ordre chimique et d'ordre physiologique.

En effet, on sait que l'aldéhyde peut se former par oxydation de l'alcool ordinaire au contact de l'air et que le phénomène est favorisé par des actions catalytiques. M. Trillat s'est occupé tout spécialement de diverses influences de cette nature en 1902 et en 1908.

M. Dubourg pensait, en 1903, que l'aldéhydification par voie physiologique est peu probable ; les organismes aérobies, levures, mycodermes, moisissures, qui semblent la produire, agiraient plutôt comme agents catalytiques. Mais, d'après les expériences de M. Trillat, les mycodermes du vin sont aldéhydifiants par leurs propriétés vitales mêmes.

Cette action physiologique devient tout à fait caractéristique

avec la levure de bière, lorsqu'elle est agitée au contact de l'air dans un liquide alcoolique, d'après les expériences de MM. Trillat et Sauton. Aussi, c'est surtout à une influence analogue qu'il faut rattacher les résultats obtenus par MM. Kayser et Demolon, qui ont vu l'aldéhyde augmenter dans les vins et autres liquides fermentés restés en contact avec leurs lies pendant un temps plus ou moins long avec accès de l'air.

Inversement, MM. Trillat et Sauton ont observé une disparition de l'aldéhyde mis en contact avec de la levure vivante en milieu anaérobie, ce qui est d'ailleurs en opposition avec des expériences antérieures de M. Rœser, dans lesquelles diverses levures de vin, faisant fermenter un liquide sucré complètement à l'abri de l'air, donnaient toutes de petites quantités d'aldéhyde.

Ces divergences peuvent s'expliquer par les conceptions nouvelles sur le rôle de l'aldéhyde dans la fermentation alcoolique, d'après les recherches de Kotytschew et de Neuberg. En effet l'aldéhyde résultant de la dislocation du sucre par la levure serait, dans la formation de l'alcool, un produit intermédiaire que l'influence hydrogénante du milieu transformerait au fur et à mesure de son apparition; mais il pourrait échapper à cette influence en petite quantité, suivant les conditions de milieu.

Cette théorie trouve une certaine confirmation dans les faits signalés par Passerini, Martinand, Peltier et moi-même, d'après lesquels un liquide fermentant en présence d'acide sulfureux combiné au sucre, s'enrichit en aldéhyde, même si l'accès de l'air est complètement supprimé. L'acide sulfureux, dégagé de sa combinaison avec le sucre, se combine aussitôt à l'aldéhyde et le soustrait ainsi à l'hydrogénation.

Quand on introduit, dans un liquide en fermentation alcoolique, de l'aldéhyde acétique, il est difficile de mettre en évidence sa transformation en alcool éthylique, parce que le liquide en contient déjà beaucoup. Mais, avec les aldéhydes supérieurs, on arrive plus facilement à démontrer leur hydrogénation. C'est ainsi que Peltier, avec l'aldéhyde butylique et Neuberg, avec l'aldéhyde valérique, ont caractérisé la production des alcools butylique et amylique correspondants.

Cette action hydrogénante ou réductrice du milieu en fermen-

tation, qui est d'ailleurs bien connue et qui s'exerce sur un grand nombre de substances, fait supposer la présence d'une réductase sécrétée par les levures, car elle existe dans le suc de levure d'après A. Harden ; mais elle n'a pas encore été nettement caractérisée dans les liquides fermentés.

M. Trillat fait jouer à l'aldéhyde un rôle très actif dans l'insolubilisation de la matière colorante du vin pendant le vieillissement. En outre, en se polymérisant et se résinifiant, grâce à la présence d'ammoniaque produite par les ferments des maladies du vin, l'aldéhyde serait la cause de l'apparition de certains goûts amers, notamment celui qui correspond à la maladie de l'amertume.

Plus récemment, M. Voisenet a trouvé, dans des vins de Bourgogne très amers, de l'acroléine qui semble provenir de l'attaque de la glycérine par le ferment de l'amertume, et ce serait à cet aldéhyde ou à ses produits de polymérisation que l'on devrait attribuer le goût amer des vins malades.

La question de l'origine et des variations des produits aldéhydiques contenus dans les vins est donc très complexe. Or nos connaissances à ce sujet sont encore assez imparfaites; j'ai voulu contribuer à les préciser un peu et je vais indiquer les résultats de mes recherches sur les influences chimiques et physiologiques qui entrent en jeu.

II. — Méthode de dosage de l'aldéhyde.

Les quantités des produits aldéhydiques que l'on a à doser dans les vins étant généralement faibles, la méthode qui convient le mieux est la méthode colorimétrique au bisulfite de rosaniline. Elle ne donne qu'un résultat global, mais dans lequel l'aldéhyde acétique a toujours une importance beaucoup plus considérable que les autres produits qui peuvent l'accompagner (1).

Ce dosage dans les vins ou leurs dépôts comporte deux opérations distinctes. Dans la première, on dégage l'aldéhyde par

(1) Nous verrons plus loin comment on peut caractériser des traces d'aldéhyde formique et d'acroléine.

distillation en le concentrant, si c'est nécessaire, dans un volume plus petit de liquide distillé que l'on amène à un volume connu en ajoutant de l'alcool pur, de façon que le titre final de la solution alcoolique soit de 50°; dans la deuxième opération, on détermine la dose d'aldéhyde contenu dans ce liquide, suivant les indications de la méthode officielle.

1° *Distillation*. — Dans mes dosages, la distillation était faite, en général, sur 40 cent. cubes de vin, additionnés de 2 cent. cubes d'acide phosphorique sirupeux, suivant les indications de M. Trillat, et introduits dans une fiole d'Erlenmayer de 125 cent. cubes, fermée par un bouchon de caoutchouc portant un tube abducteur à deux petites boules, relié ensuite à un réfrigérant à serpentin de verre.

Le titre alcoolique du vin étant connu d'avance, on sait quelle est la quantité d'alcool pur à ajouter pour avoir 50° dans le volume final de 20 cent. cubes dans lequel doit être concentré l'aldéhyde. Si, par exemple, on a un vin à 10°, les 40 cent. cubes de ce vin contenant 4 cent. cubes d'alcool pur, il faut ajouter 6 cent. cubes d'alcool absolu, ou 6 c.c. 3 à 95°.

Cet alcool est introduit dans l'entonnoir du tube du réfrigérant; il mouille ce tube et s'écoule par son extrémité effilée, qui plonge jusqu'au fond d'un tube à essai jaugé à 20 cent. cubes.

L'entonnoir étant relié par un bouchon de caoutchouc au tube abducteur à boules, et celui-ci au vase à distillation, on chauffe doucement, de façon que tout l'alcool soit chassé lorsqu'on a recueilli la quantité de liquide nécessaire pour avoir 20 cent. cubes avec l'alcool ajouté; l'opération doit durer au moins vingt minutes.

Dans ces conditions, les plus petites quantités d'aldéhyde sont recueillies en totalité, car les vapeurs entraînées par l'air du vase, au début, se dissolvent dans l'alcool qui mouille les parois du tube du réfrigérant, puis dans l'alcool qui s'est écoulé dans le tube à essai et dans lequel barbote l'air en se dégageant. Des essais de contrôle ont montré que cette méthode de distillation est absolument parfaite et qu'il est inutile et même dangereux de se servir d'un courant de gaz

carbonique pour éviter l'oxydation de l'alcool, qui est nulle dans ces conditions.

Pour dégager l'aldéhyde retenu par les dépôts des vins, on met ces dépôts en suspension dans 30 cent. cubes d'eau environ et on ajoute 3 à 4 cent. cubes d'acide phosphorique ; on distille, on recueille d'abord 25 cent. cubes, puis on ajoute 15 cent. cubes d'eau distillée et on continue la distillation pour recueillir 15 cent. cubes de liquide en plus. Ces 40 cent. cubes de liquide distillé sont soumis ensuite à une seconde distillation, comme s'il s'agissait de 40 cent. cubes de vin.

2° *Titrage de l'aldéhyde.* — Pour le titrage colorimétrique de l'aldéhyde dans les liquides distillés, on fait un premier essai sur 10 cent. cubes, qui donne une indication approximative, et on répète l'opération sur les 10 cent. cubes restant, en prenant pour le témoin une quantité d'aldéhyde très voisine de celle qui a été déterminée d'abord. Lorsque les quantités d'aldéhyde sont assez importantes, de 50 à 100 milligrammes par litre et au delà, on peut employer un témoin à 100 milligrammes par litre et se servir de la courbe que l'on peut construire avec les chiffres du tableau de l'instruction officielle.

Dosage de l'aldéhyde en présence d'acide sulfureux. — Dans les vins qui contiennent de l'acide sulfureux, notamment dans les vins liquoreux, l'aldéhyde est à l'état d'acide aldéhyde-sulfureux, qui est décomposé par l'acidité et la chaleur. Les deux composants étant recueillis dans le liquide distillé, leur recombinaison rapide entraînerait des différences, si on appliquait simplement la méthode ci-dessus. On doit alors la modifier comme suit :

Dans le tube où l'on recueille le liquide distillé et qui contient déjà l'alcool complémentaire, on introduit le réactif, de façon que les produits de la distillation arrivent immédiatement en contact avec lui. L'alcool ajouté, les 4 cent. cubes de réactif et le liquide distillé doivent donc faire un total de 14 cent. cubes, si on opère sur 20 cent. cubes de vin seulement.

La coloration commence à apparaître dès les premiers moments de la distillation et, lorsque le volume final de 14 cent. cubes est atteint, cette coloration a presque atteint son

maximum, si on a eu soin d'agiter le tube de temps en temps pour bien mélanger les différentes couches de liquide de densités différentes.

Ce mode opératoire est préférable à celui qui consiste à saturer complètement l'acidité du vin, en dépassant assez cette saturation pour décomposer complètement l'acide aldéhyde-sulfureux et fixer l'acide sulfureux. Dans ces conditions, si on a un vin avec une dose un peu forte d'aldéhyde, 400 à 500 milligrammes par exemple, il y a des pertes dues à ce que l'excès de soude retient de l'aldéhyde.

Dans les conditions précédentes, au contraire, les résultats sont tout à fait exacts, ainsi que l'ont montré de nombreux essais synthétiques.

Dans le cas où le vin contient une quantité assez importante d'aldéhyde libre ou d'acide aldéhyde-sulfureux, il suffit d'opérer sur 10 et même 5 cent. cubes de vin seulement, qui doivent être dilués à 20 cent. cubes, surtout si le sucre est abondant et, par conséquent, susceptible de se caraméliser sous l'action de l'acide phosphorique.

III. — Aldéhydification catalytique.

Dans son travail sur l'*Aldéhyde acétique dans les vins*, M. Trillat a étudié certaines influences physiques et chimiques dont dépend la formation de l'aldéhyde. Il a trouvé que la proportion augmente avec la nature des récipients du vin et avec le contact des corps poreux ou divisés. La teneur en aldéhyde du vin agité ou exposé à l'air varie avec la température, la nature des parois et leur degré de porosité, l'exposition à la lumière et le degré d'acidité. L'acide sulfureux favorise l'aldéhydification du vin blanc, comme l'avait déjà signalé M. Mathieu. En somme, d'après M. Trillat, le vin se comporte comme les solutions aqueuses d'alcool, mais le phénomène semble amplifié.

Ces diverses circonstances de l'aldéhydification sont en partie celles où peut se trouver le vin pendant sa conservation ; les résultats indiqués permettent donc de se faire déjà une idée du phénomène chimique.

Les observations que j'ai faites de mon côté m'ont fait voir

que ce phénomène dépend de la nature du vin beaucoup plus que ne l'indique M. Trillat. C'est surtout avec les vins jeunes, ne contenant pas d'aldéhyde, ou n'en contenant que des traces seulement, que l'on peut saisir facilement les variations de sa production sous l'influence de l'aération.

Dans mes essais, les conditions expérimentales étaient les suivantes : Les prises de vin, de 50 cent. cubes, étaient introduites dans des vases d'Erlenmayer de 250 cent. cubes de capacité, qui étaient ensuite bien bouchés au liège et laissés au repos à la température du laboratoire, oscillant peu autour de 15°, et avec un éclairage modéré. Dans ces conditions, on observe que la quantité d'aldéhyde produite au bout d'un temps déterminé, trois jours par exemple, varie avec chaque vin. Elle ne dépasse pas quelques milligrammes par litre avec certains vins rouges ou blancs, tandis qu'elle va au delà de 50 milligrammes avec d'autres, sans que l'on puisse établir une relation constante entre ces différences et celles de la constitution sommaire des vins.

L'aldéhydification des vins nouveaux peut être très faible pendant les premiers jours d'aération et augmenter ensuite assez rapidement; mais, dans tous les cas, lorsqu'une certaine dose est atteinte, l'augmentation ultérieure est beaucoup moins sensible. Ainsi un vin rouge, ne contenant que des traces d'aldéhyde avant aération, en avait 8 milligrammes au bout de deux jours, 12 milligrammes au bout de quatre jours, et au bout de six mois de conservation dans une bouteille en vidange sans altération aucune, la dose s'était élevée à 20 milligrammes seulement. Dans les mêmes conditions, d'autres vins auraient pu en avoir plus de 100 milligrammes. Et, très souvent, des doses pareilles sont obtenues au bout de quelques semaines seulement.

On sait que l'exposition du vin à l'air entraîne une absorption d'oxygène qui se combine à divers éléments du vin. C'est incontestablement à ce phénomène qu'est due la formation rapide d'aldéhyde dans les conditions expérimentales précédentes, mais l'expérience suivante l'établit parfaitement.

Dans un ballon de 1 litre de capacité, on introduisit 500 cent. cubes de vin jeune, non aldéhydifié et privé de ses gaz par le vide; puis, après l'avoir fermé à la lampe, on l'exposa à la

lumière pendant six jours, en l'agitant un peu chaque jour. Au bout de ce temps, on obtint les résultats suivants :

	VIN PRIMITIF	VIN AÉRÉ
	—	—
Oxygène combiné.	»	66 c.c.
Aldéhyde	traces	0 gr. 025

La quantité d'aldéhyde formée n'est guère que le 1/10e de celle qui correspond à tout l'oxygène combiné, c'est-à-dire ne pouvant être chassé par l'ébullition du vin.

Un vin exposé à l'air dissout beaucoup d'oxygène, mais il n'y a combinaison complète qu'au bout d'un temps plus ou moins long. Pendant ce temps, la production d'aldéhyde continue à s'exercer, mais en restant toujours très inférieure à celle qui correspond à tout l'oxygène combiné, comme nous le verrons plus loin.

Il suffit d'ailleurs que le vin ait absorbé de l'oxygène, par une aération de quelques instants, pour que l'aldéhydification se produise ensuite à l'abri de l'air, et, si on élève la température, elle devient beaucoup plus rapide. Ces faits ont été établis par les expériences suivantes :

1° Un vin rouge préalablement stérilisé par chauffage à 80° en vase clos, ne contenant alors que des traces d'aldéhyde, fut agité au contact de l'air pendant quelques instants et introduit peu après dans un tube qui fut scellé à la lampe, en ne laissant qu'une très petite bulle d'air à l'extrémité du tube étiré en pointe;

2° Un autre vin, également stérilisé, contenant seulement 5,5 milligrammes d'aldéhyde par litre après quatre jours d'exposition à l'air, fut ensuite mis en tube scellé comme le précédent.

Au bout d'un mois de conservation, le premier vin contenait 18 milligrammes et le second 19,5 milligrammes d'aldéhyde, soit une augmentation de 18 et 14 milligrammes par litre;

3° Deux vins contenant respectivement 12 et 15 milligrammes d'aldéhyde, furent un peu agités à l'air avant d'être chauffés en vase clos à 80°; après refroidissement spontané qui dura une demi-heure, le dosage de l'aldéhyde donna 22,5 pour le premier et 25 milligrammes pour le second, soit une augmentation de 10 milligrammes dans les deux cas.

Par conséquent, lorsque le vin a dissous de l'oxygène de l'air, il devient ensuite plus ou moins riche en aldéhyde. Or, si l'on compare, dans les mêmes conditions, l'aldéhydification du vin à celle d'un liquide artificiel de constitution assez analogue, c'est-à-dire formé d'une solution alcoolique à 10 p. 100, contenant de la glycérine, les acides et les sels minéraux et organiques du vin, y compris des traces de fer, des matières azotées et du tannin, on constate que la formation d'aldéhyde est à peu près nulle, même au bout d'un temps de contact avec l'air beaucoup plus long que pour le vin.

Il y a donc dans le vin une cause favorisante qui est vraisemblablement de nature catalytique et qui dépend de la constitution propre de ce liquide naturel. En raison de son origine, le vin peut contenir des diastases oxydantes qui sont des agents catalytiques, mais nous avons déjà vu qu'après chauffage à 80°, le vin s'aldéhydifie encore assez facilement et, comme les diastases sont détruites à cette température, il est certain qu'il existe une action catalytique purement chimique.

Action chimique. — Les matières tannoïdes du vin, la matière colorante et l'œnotannin sont, comme on sait, très facilement oxydables, on peut donc supposer qu'elles peuvent être un intermédiaire pour l'oxydation de l'alcool.

D'après les expériences suivantes, cette relation paraît, en effet, se dégager nettement :

Des solutions de gallotannin pur dans l'alcool pur à 10 p. 100, ayant été saturées en grande partie par la potasse, furent exposées à l'air dans les conditions indiquées précédemment, et, au bout de quarante-huit heures, le dosage de l'aldéhyde donna les chiffres suivants :

TITRE DES SOLUTIONS DE GALLOTANNIN par litre	ALDÉHYDE TROUVÉ par litre
1 gr. 00	0 gr. 0065
2 gr. 50	0 gr. 0250
5 gr. 00	0 gr. 0250
10 gr. 00	0 gr. 0470

La quantité d'aldéhyde formée est donc sensiblement proportionnelle au titre en tannin des solutions.

Dans une autre expérience, le titre en tannin était de

4 grammes pas litre pour tous les essais, mais pour chacun d'eux la saturation par la potasse était variable : la saturation exacte étant obtenue avec 1 c.c. 2 de potasse normale pour 100 cent. cubes de solution tannique. Le tableau ci-dessous donne les volumes de potasse normale employés, les volumes d'oxygène absorbés et les quantités d'aldéhyde produites au bout de quarante-huit heures de contact avec l'air.

VOLUME DE KOH AJOUTÉ par litre	OXYGÈNE ABSORBÉ par litre	ALDÉHYDE FORMÉ par litre	OXYGÈNE correspondant à L'ALDÉHYDE
»	125 c. c.	Traces	»
6 c.c.	325 c. c.	0 gr. 030	7 c. c. 8
12 c.c.	325 c. c.	0 gr. 065	16 c. c. 7
24 c.c.	470 c. c,	0 gr. 085	22 c, c. 0

La quantité d'aldéhyde formée dépend ici de la quantité de tannin saturé par l'alcali ajouté, et un excès d'alcali favorise l'aldéhydification, comme il favorise l'absorption d'oxygène par le tannin. Mais cette quantité d'oxygène est bien supérieure à celle qui correspond à l'aldéhyde formé par oxydation de l'alcool, puisque cette dernière n'est environ que le vingtième de la quantité totale.

Il est vrai que la formation d'aldéhyde peut augmenter ultérieurement sans absorption nouvelle d'oxygène, mais la proportion ne dépasse guère 10 p. 100 lorsque l'équilibre s'est établi. Par conséquent, ce phénomène d'aldéhydification a tous les caractères d'une action catalytique et c'est bien la combinaison du tannin avec l'alcali qui en est l'agent, car le tannin seul n'a pas d'influence sensible et la potasse seule non plus. En effet, des témoins faits avec des solutions alcooliques simplement alcalinisées aux mêmes doses n'ont rien donné pendant le même temps, ou des traces très faibles d'aldéhyde seulement.

Si on remplace, dans les solutions de tannin saturé par la potasse, l'alcool éthylique par les alcools supérieurs, propylique, butylique, ou amylique, ou par la glycérine, il y a également une aldéhydification très nette dans tous les cas, mais beau-

coup moins intense qu'avec l'alcool ordinaire, sauf cependant pour la glycérine.

Or on sait que dans le vin, les matières tannoïdes, couleur et œnotannin pour le vin rouge, et œnotannin seul pour le vin blanc, sont toujours plus ou moins combinées avec la potasse, malgré l'acidité organique du vin; cette combinaison peut donc jouer le même rôle que la précédente, et son influence est sans doute favorisée par la constitution particulière du milieu, indépendamment de la présence des oxydases.

Les petites quantités de fer unies aux matières tannoïdes paraissent être capables d'aider également leur action dans une petite mesure, comme l'a déjà constaté M. Trillat. Ainsi, en exposant à l'air une solution de tannate ferrique (1), à 1 gramme de fer par litre pour 4 grammes de tannin, légèrement acidulée par l'acide tartrique, j'ai observé la formation de quelques milligrammes d'aldéhyde au bout de trois jours; mais, avec une proportion de fer dix fois plus faible, il ne se forme que des traces d'aldéhyde; et, que le fer soit au maximum ou au minimum d'oxydation, le résultat est le même.

En somme, c'est de la quantité de potasse combinée aux matières tannoïdes que paraît dépendre principalement l'aldéhydification du vin; en effet, si on lui ajoute des acides minéraux ou organiques, on voit en général le phénomène se ralentir plus ou moins.

Ce fait peut être démontré d'une manière très nette avec certains vins qui ont perdu une grande partie de leur acidité fixe, celle de la crème de tartre notamment, sous l'action des ferments de maladie, tels que celui qui a fourni à l'analyse les chiffres ci-après :

Alcool	10°
Acidité totale	1 gr. 61
Acidité volatile	1 gr. 18
Acidité tartrique	traces
Potasse (KOH)	0 gr. 68
Matières tannoïdes	2 gr. 30
Cendres	3 gr. 82

(1) M. Stœcklin a reconnu que le tannate ferrique peut constituer une orte de peroxydase, car il détermine une aldéhydification rapide des solutions alcooliques en présence de l'eau oxygénée.

Ce vin avait une couleur tuilée terne due à la faiblesse de l'acidité fixe qui laissait une partie importante de la potasse combinée aux matières tannoïdes. En effet, l'addition d'acide phosphorique ou d'acide tartrique ravivait considérablement cette couleur.

Les quatre essais différents faits avec ce vin donnèrent les résultats suivants :

NATURE DES ESSAIS	ALDÉHYDE PAR LITRE
Vin naturel avant aération	0 gr. 0025
— après 72 heures d'aération	0 gr. 0160
Vin stérilisé à 80°, après 72 heures d'aération	0 gr. 0160
Vin acidifié par P^2O^5, après 72 heures d'aération. . . .	0 gr. 0080
— par $C^2H^4O^6$, après 72 heures d'aération. . .	0 gr. 0105

Dans les essais acidifiés, l'aldéhydification avait été notablement atténuée, et plus avec l'acide minéral qu'avec l'acide organique, bien que les quantités ajoutées fussent équivalentes toutes les deux à la moitié de la potasse contenue dans le vin.

La stérilisation du vin à 80° n'a eu aucune influence.

Dans les deux premiers essais, le vin avait noirci, puis s'était troublé beaucoup, il avait subi une sorte de casse noire due à l'oxydation rapide des matières tannoïdes, tandis que les vins acidifiés avaient conservé leur couleur rouge et leur limpidité.

On pourrait penser, avec M. Trillat, que l'insolubilisation rapide des matières tannoïdes de ce vin était due justement à cette aldéhydification facile, suivie d'une combinaison avec ces matières entraînant leur coagulation. Mais la recherche de l'aldéhyde dans le dépôt qui se redissolvait entièrement à chaud dans l'acide phosphorique n'en donnait que des traces.

Actions diastasiques oxydantes. — Le vin peut contenir deux oxydases différentes : 1° Celle du raisin ou *œnoxydase* découverte par M. Martinand, mais qu'on n'y trouve qu'en quantité très faible, comme dans le raisin (1);

2° Celle qui détermine les phénomènes de la *casse brune* des vins, qui a été révélée par Gouirand et qui provient de la pourriture des raisins par le *Botrytis cinerea*, comme je l'ai démontré ; c'est donc une *phytoxydase*.

(1) MM. Bouffard et Sémichon ont également étudié de très près l'oxydase des raisins et son rôle en vinification.

Influence de l'œnoxydase. — La présence de l'œnoxydase s'accuse très fréquemment dans les vins blancs de raisins sains qui sont exposés à l'air, car le vin naturel brunit plus ou moins, tandis que le vin chauffé à 85° change toujours beaucoup moins de couleur.

On observe une différence dans le même sens pour l'aldéhydification, différence qui est en relation avec la nature du moût qui a fourni le vin et non avec la fermentation de ce moût, comme le montre l'expérience suivante :

Un même moût de raisins sains très mûrs fut divisé en deux parties, l'une restant en nature, l'autre étant chauffée à l'ébullition. Ces deux échantillons ensemencés avec la même levure fermentèrent ensuite à l'abri de l'air ; ils donnèrent ainsi deux vins qui ne contenaient que de très petites quantités d'aldéhyde. Après clarification spontanée, ils furent soumis à l'action de l'air, en nature et après chauffage à 85°. Les résultats de l'aldéhydification furent les suivants :

		VIN NON CHAUFFÉ	VIN CHAUFFÉ
Moût nature. . .	Avant aération	Traces.	Traces.
	Après aération	20 milligr.	5 milligr.
Moût bouilli. . .	Avant aération	10 milligr.	10 milligr.
	Après aération	15 milligr.	10 milligr.

Donc le vin non chauffé du moût naturel s'était seul sensiblement aldéhydifié pendant les 48 heures que dura l'exposition à l'air, et il avait légèrement bruni par rapport à tous les autres.

Mais on ne peut se contenter de ces résultats pour établir l'influence de l'œnoxydase sur l'aldéhydification. Dans les expériences suivantes, j'étudierai non seulement l'action de la chaleur mais aussi celle de l'acide sulfureux, et l'activité du précipité produit par l'alcool fort, en considérant d'abord les deux premiers agents ensemble.

Action de la chaleur et de l'acide sulfureux. — Pour étudier ces deux actions, on doit choisir de préférence un vin rouge ne contenant pas d'aldéhyde et s'aldéhydifiant rapidement et assez énergiquement pendant une exposition de quelques jours à l'air.

L'application de la chaleur doit être faite dans les conditions de la pasteurisation en bouteille, c'est-à-dire par un chauffage au bain-marie de la bouteille pleine et fermée par un bouchon

de liège ficelé, la température atteinte par le vin étant de 80° au moins.

Le tableau suivant donne des résultats comparatifs pour des vins divers traités par la chaleur et par une dose de 100 milligrammes d'acide sulfureux par litre; les quantités d'aldéhyde formées sont exprimées en milligrammes par litre.

VINS DIVERS	AÉRATION	VIN NATUREL	VIN CHAUFFÉ	VIN SULFITÉ	VIN CHAUFFÉ et SULFITÉ
N° 1.	4 jours.	15	9	Traces	Traces
	7 —	30	31	35	20
N° 2.	3 jours.	9	18	5,5	3
	6 —	30	18	14,5	7
N° 3.	3 jours.	42	20	19	10
	6 jours.	60	31	62,5	17,5

Les vins chauffés s'aldéhydifient moins vite que les vins naturels, mais il y a une exception, qui n'est pas rare, et qui s'explique par l'existence d'une réaction inverse de l'aldéhydification, comme je le montrerai plus loin.

L'influence retardatrice de la chaleur s'atténue après un certain temps d'aération variable avec la nature du vin. Pour les vins blancs, beaucoup plus pauvres en matières tannoïdes, la différence persiste presque indéfiniment dans certains cas.

Si l'acide sulfureux est ajouté dans le vin naturel, son influence s'exerce en général dans le même sens que le chauffage et souvent avec plus d'intensité; mais, comme pour la chaleur, l'équilibre peut s'établir avec une aération assez prolongée. En combinant l'action du chauffage à celle de l'acide sulfureux, l'aldéhydification est considérablement réduite, même après une très longue aération.

Activité du précipité produit par l'alcool. — Dans l'expérience suivante, on a traité 200 cent. cubes d'un vin jeune s'aldéhydifiant rapidement à l'air; après repos d'une heure, le précipité a été redissous dans 50 cent. cubes d'eau alcoolisée à 10 p. 100 et acidifiée à 0,2 p. 100 d'acide tartrique, et on a comparé l'aldéhydification de ce liquide à celle du vin primitif et à celle

d'un autre vin ayant été chauffé et auquel on avait ajouté un précipité pareil au précédent.

APRÈS 4 JOURS D'AÉRATION	SOLUTION DU PRÉCIPITÉ	VIN PRIMITIF	AUTRE VIN PRÉALABLEMENT CHAUFFÉ
	milligr.	milligr.	milligr.
Avec chauffage préalable . .	Traces	4,5	4,5
Sans chauffage préalable . .	10,0	19,0	22,5

Donc les deux précipités contenaient de l'œnoxydase, dont l'influence favorisante pouvait s'exercer dans des milieux autres que le vin primitif et indépendamment de la présence des matières tannoïdes.

Influence du vieillissement. — Tous les résultats qui précèdent ont été obtenus avec des vins jeunes, expérimentés peu de temps après leur sortie de la cuve et non aldéhydifiés. Des vins ayant séjourné assez longtemps en barrique et ayant reçu de l'acide sulfureux, ou ayant vieilli en bouteille conviendraient beaucoup moins.

En effet l'aldéhyde formé serait une gêne, et même s'il avait disparu complètement dans les conditions qui seront étudiées plus loin, le vin ne serait plus apte à fournir les résultats indiqués; car la capacité d'absorption du vin nouveau pour l'oxygène est limitée, et cet oxygène, après combinaison avec les différents éléments oxydables, modifie leur constitution et, par suite, leurs propriétés chimiques.

L'œnoxydase, notamment, perd assez rapidement toute son activité et les matières tannoïdes, la plus grande partie de la leur. De sorte que l'aldéhydification des vins vieux est, en général, beaucoup moins importante que celle des vins jeunes, comme j'ai pu le constater avec des vins conservés dans différentes conditions et pendant plus ou moins longtemps.

Influence de l'oxydase du *Botrytis cinerea*. — Si on considère maintenant des vins rouges ou blancs provenant de raisins altérés par la pourriture grise ou la pourriture noble, il semble bien, d'après ce qui précède, que l'oxydase que contiennent ces vins, souvent en abondance, puisse être un agent d'aldéhydification très actif à cause des phénomènes d'oxydation si éner-

giques qu'elle provoque, et qui entraînent l'altération connue sous le nom de *casse brune*. C'est ainsi que M. Pottevin et M. Cazeneuve ont rattaché l'existence de quantités assez importantes d'aldéhyde trouvées dans les vins cassés à l'action de l'oxydase. Cependant M. Dubourg et M. Passerini refusent à l'oxydase du *Botrytis* la faculté de favoriser l'aldéhydification des solutions alcooliques ou du vin.

D'après l'action de la formaldéhyde sur la couleur rouge des vins découverte par M. Trillat, dans laquelle il se forme une laque insoluble, et l'action analogue constatée par M. Martinand pour l'aldéhyde acétique lorsqu'il est ajouté au vin en proportion assez forte, on pouvait supposer que la précipitation de la couleur dans les vins cassables était en relation avec une aldéhydification intense de l'alcool.

Mais il est établi actuellement que l'insolubilisation des matières tannoïdes du vin est indépendante de la présence de l'alcool et, par suite, d'une production d'aldéhyde. Cela résulte des expériences qui m'ont conduit à la découverte de l'oxydase du *Botrytis cinerea* et de ses propriétés. M. Martinand a trouvé également que du moût de raisin, des solutions de matières colorantes végétales se rapprochant de celle du vin, des baies de sureau, de myrtilles, etc., du tannin, ne contenant aucun alcool susceptible de donner un aldéhyde, sont rapidement précipitées après oxydation due à l'air et à l'oxydase. Donc on ne peut attribuer la coagulation des matières tannoïdes des vins rouges ou blancs qui cassent qu'à une oxydation directe de ces matières; d'ailleurs le précipité ne contient pas d'aldéhyde.

Dans un travail antérieur, j'ai étudié la différence qui existe entre l'oxydation des vins sains et celle des vins cassables ; je vais rappeler ici les résultats obtenus pour les rapprocher ensuite de ceux fournis par l'étude de l'aldéhydification :

1° La capacité d'absorption d'un vin pour l'oxygène de l'air pendant un temps donné, une semaine par exemple, dépend de la constitution du vin, notamment de sa richesse en matières tannoïdes; cette capacité peut être plus grande pour un vin sain que pour un vin cassable, mais le rapport $\frac{CO^2}{O}$ de l'acide carbonique produit à l'oxygène absorbé est toujours plus grand pour le vin cassable que pour le vin sain ; cette différence dis-

paraît complètement lorsque le vin cassable a été chauffé à 80°.

2° L'addition d'acide sulfureux en quantité strictement nécessaire pour empêcher la casse ne modifie pas sensiblement la valeur du rapport $\frac{CO^2}{O}$ des vins cassables, tandis que la même quantité abaisse celui des vins sains.

3° Dans les vins cassables, l'oxydation est très active pendant les premiers jours et diminue de plus en plus ensuite; la présence de SO^2 régularise l'absorption d'oxygène, de sorte que, au bout d'une semaine, le volume absorbé est sensiblement le même que pour le vin non traité, sans que les matières tannoïdes soient altérées.

Aldéhydification des vins cassables. — L'expérience va nous indiquer maintenant dans quelle mesure s'aldéhydifient les vins cassables exposés à l'air et quelle est l'influence du chauffage et de l'acide sulfureux.

Je considérerai d'abord un vin rouge de 1907 conservé en bouteille depuis cette époque, mais ayant perdu une forte proportion de ses matières tannoïdes; il donnait les réactions très marquées de l'oxydase et cassait fortement en brun au bout de quelques heures d'aération. Dans les conditions habituelles d'exposition à l'air, il donna les résultats suivants :

	ALDÉHYDE PAR LITRE
Vin primitif (avant aération)	Néant.
Vin primitif après 18 heures d'aération	Néant.
Vin chauffé à 80° après 18 heures d'aération	Traces.
Vin primitif après 15 jours d'aération	0 gr. 0015
Vin chauffé à 80° après 15 jours d'aération	0 gr. 0065

Quoique faible, l'aldéhydification présente des différences très nettes entre le vin non chauffé et le vin chauffé; le premier qui s'était complètement cassé n'avait que des traces d'aldéhyde même après cette très longue aération, alors que le second qui était resté parfaitement limpide en avait une quantité beaucoup plus sensible.

Mais cette expérience est peu concluante, parce que ce vin, quoique riche en oxydase, était beaucoup trop vieux et usé et, par suite, peu apte à s'aldéhydifier, comme je l'ai indiqué plus haut.

Dans une autre expérience, ce même vin cassable fut mélangé à un vin sain en différentes proportions, puis ces mélanges

furent exposés à l'air en même temps que des mélanges témoins ayant été préalablement chauffés à 80°. Au bout de 4 jours on trouva les quantités suivantes d'aldéhyde par litre :

VIN CASSABLE	VIN NON CASSABLE	MÉLANGES NON CHAUFFÉS	MÉLANGES CHAUFFÉS
p. 100	p. 100	milligr.	milligr.
20	80	23	25
40	60	17	26
60	40	8	10,5
80	90	3	Traces.
100	»	Traces.	Traces.
»	100	16	15,5

Le n° 1 des mélanges non chauffés était peu cassé, mais les autres l'étaient complètement, ce qui montre que le vin cassable primitif contenait beaucoup d'oxydase.

On voit que l'intensité de l'aldéhydification était en raison inverse de la quantité de vin cassable qui entrait dans le mélange, et, ici encore, les vins chauffés, n'ayant pas cassé, s'étaient aldéhydifiés plus que les vins qui avaient fortement cassé. On pourrait donc conclure que cette oxydase n'est pas un agent d'aldéhydification, mais ce serait en contradiction complète avec les résultats de l'expérience suivante faite avec un vin blanc provenant d'un moût ayant servi de liquide de culture au *Botrytis cinerea* pur.

Ce vin, très riche en oxydase et non aldéhydifié, fut mélangé en proportion variable avec un vin rouge préalablement pasteurisé à 80°, et après exposition à l'air on trouva les chiffres ci-dessous :

VIN BLANC riche EN OXYDASE	VIN ROUGE SAIN	APRÈS 2 JOURS D'AÉRATION		APRÈS 4 JOURS D'AÉRATION	
		MÉLANGES NON CHAUFFÉS	MÉLANGES CHAUFFÉS	MÉLANGES NON CHAUFFÉS	MÉLANGES CHAUFFÉS
p. 100	p. 100	milligr.	milligr.	milligr.	milligr.
25	75	16	14,5	93	14,5
50	50	16	14	52	14
75	25	15	15	41	36
100	»	41	16	110	16
»	100	42	12	14	12

Au bout de deux jours, la casse était très sensible dans le mélange n° 1 non chauffé et déjà très forte dans les deux autres dont les précipités étaient brun rouge et brun jaune. Le vin rouge sain n'avait pas changé d'aspect, et le vin blanc riche en oxydase avait à peine jauni parce qu'il était à peu près complètement dépouillé de tannin.

Pour la première partie de l'expérience, les résultats diffèrent déjà de ceux du tableau précédent, surtout avec le vin blanc pur. Pendant la deuxième partie, l'oxydation de la couleur des trois mélanges non chauffés s'était fortement accentuée et l'aldéhydification avait augmenté en raison de la proportion de vin blanc ajouté.

Donc l'oxydase contribue mieux à l'oxydation de l'alcool lorsque les matières tannoïdes du vin rouge sont suffisamment oxydées et par suite insolubilisées, et leur rôle serait ici l'inverse de celui qui leur a été attribué précédemment. Mais il est possible que cette oxydation brutale suivie d'une coagulation rapide favorise mal l'aldéhydification, soit parce que l'oxygène absorbé est surtout employé aux autres oxydations, soit parce que l'aldéhydification est une action plus lente.

Quant à la différence qui existe entre les résultats de cette dernière expérience et ceux de la précédente, elle tient à ce que, dans le vin cassable de 1907, il y avait, à côté de l'action oxydante, une action réductrice de l'aldéhyde très active, plus active même que l'aldéhydification vraisemblablement. Tandis que, dans le vin blanc et dans les mélanges avec du vin rouge pasteurisé, la désaldéhydification n'existait pas; l'influence de l'oxydase s'exerçait librement dans ces mélanges et avec beaucoup d'activité dans le vin blanc pur. Comme il ne contenait que des traces de matières tannoïdes déjà complètement oxydées, on voit que l'action de l'oxydase du *Botrytis* est indépendante de la présence de ces matières, comme celle de l'œnoxydase.

Influence de l'acide sulfureux. — L'addition d'acide sulfureux annihile l'action de l'oxydase sur les matières tannoïdes, de même que le chauffage du vin; mais ce n'est pas par le même mécanisme, ainsi que je l'ai montré depuis longtemps, et ainsi qu'on le voit encore par l'expérience suivante :

	APRÈS 3 JOURS D'AÉRATION	APRÈS 6 JOURS D'AÉRATION
	—	—
Vin non chauffé	9 milligr.	25 milligr.
Vin chauffé à 80°	10 milligr.	11 milligr.
Vin non chauffé + 0 gr. 075 SO^2.	12 milligr. 5	50 milligr.
Vin chauffé + 0 gr. 075 SO^2. . .	9 milligr.	11 milligr.

Le vin non chauffé seul avait cassé. Au bout de 3 jours le précipité était très abondant et rouge brun ; il était jaune brun après 6 jours. C'est surtout au bout de ce temps que les résultats sont bien nets ; le vin naturel, comme dans l'expérience précédente, s'était aldéhydifié beaucoup plus vite après la précipitation des matières tannoïdes et le vin chauffé était resté très en arrière. Dans le vin chauffé contenant SO^2, l'aldéhydification était deux fois plus grande que dans le vin cassable, tandis que pour le vin chauffé, additionné également de SO^2, il n'y a pas de différence avec le vin simplement chauffé. Donc la présence de SO^2 dans le vin primitif, ayant empêché la casse, ne paraît avoir eu aucune influence positive sur la formation de l'aldéhyde, et l'excédent de cette formation ne peut être attribué qu'à l'oxydase restée active ; c'est-à-dire que l'oxygène, absorbé en aussi grande quantité que dans le vin naturel, s'était porté davantage sur l'alcool à la faveur de l'oxydase, et sans doute aussi à la faveur de l'oxydation des matières tannoïdes qui avait eu lieu sans coagulation.

Avec des vins blancs obtenus à l'aide de raisins atteints de pourriture noble très accentuée, on peut obtenir des résultats analogues, comme le montrent les deux exemples suivants :

NUMÉROS DES VINS	ALDÉHYDE AVANT AÉRATION	ALDÉHYDE APRÈS 4 JOURS D'AÉRATION		
		VIN NON CHAUFFÉ	VIN CHAUFFÉ	VIN SULFITÉ
	milligr.	milligr.	milligr.	milligr.
1	7,5	32,0	40,0	50,0
2	Traces.	76,0	90,0	100,0

On retrouve ici, entre les vins non chauffés et chauffés, des différences analogues à celles qui ont été remarquées pour les vins rouges cassables, où, à côté de l'aldéhydification, s'exerce

une action contraire, laquelle paraît être paralysée par la présence de l'acide sulfureux.

Action de l'oxydase précipitée par l'alcool. — Les vins cassables, rouges ou blancs, traités par l'alcool concentré donnent un précipité abondant de matières dextriniformes, provenant des transformations de la dextrane sécrétée par le *Botrytis*. Il en est de même avec un moût qui a servi de liquide de culture au *Botrytis cinerea* pur. Ces précipités, qui sont imprégnés d'oxydase, sont assez solubles dans l'eau alcoolisée à 10 p. 100 et acidifiée légèrement par l'acide tartrique, qui augmente le pouvoir dissolvant du liquide.

Des solutions ainsi obtenues ayant été expérimentées comme précédemment fournirent les résultats suivants :

APRÈS 4 JOURS D'AÉRATION	PRÉCIPITÉ DE VIN CASSABLE n° 1	PRÉCIPITÉ DE MOUT (CULTURE DE BOTRYTIS) n° 2
	milligr.	milligr.
Liquide naturel.	22	22,5
— chauffé	17,5	Traces.
— naturel + SO^2 . . .	29,0	21,0
— chauffé + SO^2 . . .	19,0	Traces.

Avec le précipité n° 1 les variations de l'aldéhydification sont analogues à celles qui ont été constatées dans les vins cassables; mais avec le précipité n° 2, les différences sont beaucoup plus nettes : les liquides chauffés, qu'il y ait ou non de l'acide sulfureux, ne se sont pas aldéhydifiés, alors que les liquides non chauffés, avec ou sans acide sulfureux, se sont aldéhydifiés avec la même intensité.

Les différences entre les deux solutions s'expliquent par la différence de composition des précipités, et il semble bien que le précipité n° 2 était le plus pur parce qu'il provenait d'un liquide n'ayant pas fermenté. Toutefois, ces deux solutions ont donné un résultat commun qui présente le maximum d'intérêt, c'est que la présence de l'acide sulfureux n'a pas modifié beaucoup l'action de l'oxydase. Ce fait vient à l'appui de ceux que j'ai établis antérieurement et qui montrent que, si l'acide sulfureux empêche la casse des vins, ce n'est pas en portant atteinte

à l'oxydase elle-même, mais en modifiant l'affectation de l'oxygène qui est convoyé par la diastase.

Conclusions. — L'aldéhydification des vins peut donc être favorisée par trois agents catalytiques principaux : 1° les matières tannoïdes plus ou moins combinées à la potasse; 2° l'œnoxydase ; 3° l'oxydase du *Botrytis cinerea*.

La pasteurisation des vins normaux ainsi que l'addition d'acide sulfureux gênent le plus souvent l'aldéhydification, sans jamais l'empêcher complètement. La pasteurisation agit de même dans les vins cassables, mais non l'acide sulfureux, qui favorise au contraire l'aldéhydification en empêchant la casse.

IV. — Désaldéhydification spontanée.

On a vu plus haut qu'un vin pasteurisé à 80° s'aldéhydifie à l'air et même en vase clos, s'il a été aéré préalablement.

Dans ce dernier cas, la formation d'aldéhyde atteint un maximum au bout de quelques jours et la dose qui existe alors persiste en général pendant longtemps.

Si on prend un vin jeune non chauffé, on trouve le plus souvent une différence très nette avec les résultats précédents ainsi que le montre l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE DU 26 JANVIER	ALDÉHYDE PAR LITRE	
	30 JANVIER	14 FÉVRIER
	milligr.	milligr.
Vin naturel exposé à l'air	15,0	—
Témoin pasteurisé à 80°	9,5	—
Vin naturel aéré et mis en tube scellé sans air	10,0	Traces.
Vin naturel aéré, chauffé et mis en tube scellé sans air	13,0	13,0

Donc il y a eu désaldéhydification dans le vin naturel, mais non dans le vin chauffé. Ces deux vins, ayant subi une deuxième aération pour être remis en tubes scellés sans air, donnèrent après seize jours de conservation :

Vin pasteurisé	18 milligr. d'aldéhyde.
Vin naturel	Traces d'aldéhyde.

La deuxième aération ne paraissait avoir produit aucun effet sur le vin naturel, grâce à la désaldéhydification, tandis que le vin pasteurisé avait pu s'enrichir de 5 milligrammes d'aldéhyde.

Si on ajoute de l'aldéhyde dans un vin non aéré, on peut également le voir disparaître en proportion assez importante, comme dans l'exemple suivant, où la désaldéhydification s'est exercée du 11 novembre au 5 décembre.

NATURE DES VINS	ALDÉHYDE AJOUTÉ par litre	ALDÉHYDE RETROUVÉ par litre
	milligr.	milligr.
Vin primitif	50	Néant.
— primitif	100	Néant.
— primitif	150	Traces.
— primitif	200	15
Vin témoin pasteurisé à 80°	100	110

Cette désaldéhydification, qui est empêchée par le chauffage préalable du vin, peut se produire avec assez d'intensité au contact de l'air également dans bien des cas. Je citerai entre autres celui de l'expérience ci-dessous :

NATURE ET NUMÉROS DES ESSAIS		ALDÉHYDE AJOUTÉ par LITRE	ALDÉHYDE RETROUVÉ	
			3 JOURS après	6 JOURS après
		milligr.	milligr.	milligr.
Exposition à l'air :	Vin naturel . . . 1	»	11,3	20,8
	Vin naturel . . . 2	20	14,0	29,4
	Vin pasteurisé. . 3	»	5,5	20,8
Conservation en tubes scellés :	Vin naturel . . . 4	20	Traces.	Traces.
	Vin naturel . . . 5	40	15,0	Traces.
	Vin pasteurisé. . 6	40	45,6	45,6

Malgré l'addition d'aldéhyde dans l'essai n° 2, il y a presque équilibre d'aldéhydification avec le n° 1, au bout de trois jours d'aération; le vin n° 2 a donc perdu de l'aldéhyde pendant que que le n° 1 en gagnait. Cette perte était due à la désaldéhydification, qui s'était accusée très nettement dans les essais n°s 4 et 5. On retrouve l'influence du chauffage dans le n° 6. Le vin

n° 3 est resté en arrière tout d'abord par rapport au n° 1, mais il avait rattrapé le temps perdu au bout de six jours. Quant à l'essai n° 2, il ne dépassait ses voisins que de 9 milligrammes alors que l'excédent aurait dû être de 20 milligrammes; l'équilibre se serait vraisemblablement établi avec quelques jours de plus d'aération.

La désaldéhydification est plus active à l'abri de l'air qu'au contact de l'air, et dans ce dernier cas, elle paraît s'atténuer beaucoup et même devoir cesser complètement après un certain temps.

Dans les vins naturels, l'aldéhydification constatée est donc la résultante des deux phénomènes, et, suivant leur intensité relative, il peut se faire que dans le vin chauffé, où l'aldéhydification est cependant réduite, elle soit égale et même supérieure à celle du vin naturel, au début de l'aération, comme je l'ai observé dans bien des cas.

La désaldéhydification est vraisemblablement en rapport avec la réductase sécrétée par la levure pendant la fermentation du moût de raisin, et sur la présence de laquelle j'aurai l'occasion de revenir. Le chauffage du vin, en atténuant ou détruisant complètement cette diastase, diminue beaucoup le phénomène, en général, mais il peut rester encore assez sensible dans certains vins comme le montrent les exemples suivants :

NATURE DES VINS		18 NOVEMBRE	4 JANVIER	DIFFÉRENCES
		milligr.	milligr.	milligr.
Vin rouge 1913	Naturel.	25	8	17
	Chauffé.		16	9
Vin blanc de raisins sains	Naturel.	50	Traces.	50
	Chauffé.		37	13
Vin blanc de raisins pourris	Naturel.	17	Traces.	17
	Chauffé.		6	11
Vin de chasselas	Naturel.	92,5	Néant.	92,5
	Chauffé.		92,5	0

Il y a toujours des différences très accentuées entre les vins naturels et les vins chauffés; toutefois, il semble que la constitution du vin ait aussi une certaine influence sur la désaldéhydification. Elle s'est produite dans tous les cas sans aucune modification de la limpidité des vins rouges ou blancs.

Influence de l'acide sulfureux: — L'addition d'acide sulfureux dans un vin capable de se désaldéhydifier arrête totalement le phénomène, comme on le voit dans l'expérience ci-après :

EXPÉRIENCE DU 24 DÉCEMBRE	27 DÉCEMBRE	13 JANVIER
	milligr.	milligr.
Vin naturel + 50 milligr. d'aldéhyde.	5,0	Traces.
Vin chauffé + 50 milligr. d'aldéhyde	50,0	38
Vin naturel + 50 milligr. d'aldéhyde et 50 milligr. de SO^2	50,0	50

Dans une autre expérience faite avec un vin tourné, 95 milligrammes d'aldéhyde sur 100 milligrammes ajoutés disparurent au bout de sept jours, tandis que dans l'essai contenant 150 milligrammes de SO^2, la dose d'aldéhyde resta intacte.

Donc, en passant à l'état d'acide aldéhyde-sulfureux, l'aldéhyde résiste complètement à l'action réductrice du milieu, qui sera mieux étudiée plus tard.

Influence du vieillissement du vin. — On sait que l'aération atténue la désaldéhydification ; quant à sa disparition complète elle dépend des traitements subis par le vin. Ainsi, pour des vins mis en bouteilles très jeunes, à l'âge de deux mois environ, j'ai constaté que le pouvoir désaldéhydifiant était encore assez notable huit ans après, et il était plus grand dans les vins où les microbes anaérobies avaient agi davantage, comme le montrent les chiffres ci-dessous :

Nos des VINS	ACIDITÉ VOLATILE	ALDÉHYDE AJOUTÉ LE 1er FÉVRIER	ALDÉHYDE RETROUVÉ LE 16 FÉVRIER	
			VIN NATUREL	VIN CHAUFFÉ
	gr.	milligr.	milligr.	milligr.
1	0,50	40	35	35
2	0,68	40	29	38
3	1,00	40	Néant.	38
4	0,35	40	2[illegible]	38

Ces vins ayant été préparés au laboratoire et conservés dans les mêmes conditions, leur pouvoir désaldéhydifiant primitif devait donc être à peu près le même; il paraît avoir disparu complètement dans un cas, tandis qu'il s'est conservé plus ou moins dans les autres, sans doute parce que l'action microbienne avait augmenté le pouvoir réducteur du milieu, et gêné son oxydation par la production de CO^2. Mais dans tous les cas, il n'y avait aucune trace d'aldéhyde dans les vins au moment de l'ouverture des bouteilles.

Au contraire, dans tous les vins qui ont été conservés comme d'habitude, c'est-à-dire avec un séjour assez long en barrique avant la mise en bouteilles et avec des soutirages et soufrages nombreux, il y a plus ou moins d'aldéhyde, même après une longue conservation, et aussi de l'acide sulfureux, le plus souvent en quantité plus que suffisante pour fixer l'aldéhyde, comme le montrent les chiffres suivants trouvés dans des vins rouges de la Gironde :

ANNÉES DES VINS	ALDÉHYDE par litre	ACIDE SULFUREUX par litre	ALDÉHYDE CORRESPONDANT à SO^2
	milligr.	milligr.	milligr.
1900	8,0	13,0	8,9
1904	18,5	38,4	25,6
1905	9,0	22,0	15,1
1906	22,0	32,8	22,8
1908	14,0	28,0	19,2
1911	24,0	54,8	37,6

Le pouvoir désaldéhydifiant de ces vins fut essayé en leur ajoutant 40 milligrammes d'aldéhyde libre et les conservant en vase clos pendant un mois, mais la dose totale ne varia pas sensiblement pendant ce temps.

Les phénomènes d'aldéhydification et de désaldéhydification présentent donc des différences très marquées suivant les deux modes de conservation du vin étudiés, et au point de vue des résultats du vieillissement, il est établi depuis longtemps que le second est bien supérieur au premier. La combinaison de l'acide sulfureux avec l'aldéhyde, par ses propriétés antiseptiques, est certainement un des facteurs importants de cette supériorité.

Conclusions. — A côté des actions aldéhydifiantes qui s'exercent dans les vins ayant absorbé de l'oxygène de l'air, il existe des actions inverses qui font disparaître l'aldéhyde formé naturellement ou celui qui est ajouté expérimentalement, si le vin est privé du contact de l'air et s'il est assez jeune.

Cette désaldéhydification spontanée qui se produit sans modification de la limpidité des vins, peut être rapprochée du fait indiqué par Pasteur, que les vins trop aérés, qui ont contracté le goût et l'odeur d'évent, perdent ces défauts après un certain temps de conservation à l'abri de l'air. La formation d'aldéhyde est incontestablement une des causes principales des modifications des qualités gustatives du vin, et la disparition de cet aldéhyde est également une raison importante du retour des qualités primitives.

Dans les vins qui vieillissent en barriques, puis en bouteilles, le pouvoir désaldéhydifiant s'atténue de plus en plus, surtout si le vin reçoit de l'acide sulfureux. L'aldéhyde est fixé à l'état d'acide aldéhyde-sulfureux dont les propriétés physiologiques sont très favorables à la conservation du vin sans gêner le développement des qualités dues au vieillissement.

V. — Aldéhydification et désaldéhydification physiologiques.

Les divers organismes microscopiques qui exercent une action physiologique sur le vin peuvent se classer en trois groupes : 1° les levures, 2° les mycodermes, 3° les ferments filiformes des maladies anaérobies.

Rôle des levures alcooliques. — D'après les recherches de Rœser, la fermentation alcoolique donne de l'aldéhyde même en milieu tout à fait anaérobie; mais la quantité est plus grande quand l'air n'est pas aussi complètement écarté.

Donc tous les vins rouges sortant de la cuve, ou les vins blancs jeunes pris au foudre ou à la barrique, devraient toujours contenir de l'aldéhyde, tandis que les exceptions sont extrêmement nombreuses, surtout pour les vins rouges. L'expérience suivante montre, en effet, que l'aldéhyde produit pendant la fermentation peut avoir disparu complètement lorsque le vin est fait.

Le moût était contenu dans une bouteille fermée par un bou-

chon fermant hermétiquement et ficelé qui portait un tube effilé rempli jusqu'à la pointe fermée à la lampe. La fermentation étant commencée, on ouvrait la pointe du tube pour laisser sortir une petite quantité de moût, qui était remplacée par du CO^2, et on refermait la pointe. Des prises successives de liquide furent faites, de la même manière, dans ce moût au cours de la fermentation, sans que l'air pénétrât sensiblement dans la bouteille. L'expérience porta sur des moûts différents et donna les résultats ci-après :

DATES	MOUT DE CHASSELAS SAIN				MOUT DE RAISINS BLANCS POURRIS			
	MOUT NATUREL		MOUT BOUILLI		MOUT NATUREL		MOUT BOUILLI	
	Sucre fermenté	Aldéhyde	Sucre fermenté	Aldéhyde	Sucre fermenté	Aldéhyde	Sucre fermenté	Aldéhyde
	gr.	milligr.	gr.	milligr.	gr.	milligr.	gr.	milligr.
23 oct.	30	45	20	35	40	85	35	65
29 oct.	69	75	44	62,5	60	115	55	90
13 nov.	150	52,5	120	55	110	90	90	80
30 nov.	194	45,0	176	50	198	17	141	20
4 janv.	200	Traces.	200	Traces	255	Traces	250	Traces.

On voit que l'aldéhyde apparaît dès le début de la fermentation; sa proportion atteint assez rapidement un maximum, puis elle diminue moins vite qu'elle a augmenté. Après la disparition du sucre, il en reste des quantités plus ou moins importantes, mais si on maintient le vin à l'abri de l'air, il finit par se désaldéhydifier complètement. La présence de la levure n'est pas nécessaire pour cela, comme on l'a déjà vu, mais elle favorise en général le phénomène.

Entre les moûts naturels et bouillis, il y a des écarts assez sensibles et qui tiennent vraisemblablement à ce que la quantité d'oxygène dissous dans le milieu est plus faible dans le moût bouilli. De sorte que la production d'aldéhyde est peut-être simplement liée à la quantité d'oxygène dissous ou faiblement combiné que le milieu peut offrir au développement de la levure, et quand ce dernier a atteint son maximum, le milieu étant devenu très réducteur, la désaldéhydification s'exerce de plus en plus.

Ces résultats ne sont pas particuliers au moût de raisin ni à

une levure spéciale, car avec un liquide fermentescible, constitué par de l'eau de levure et du sucre interverti et ensemencé avec des levures diverses, on a trouvé les résultats ci-dessous :

NATURE DES LEVURES	25 NOVEMBRE, MILIEU de la fermentation	8 DÉCEMBRE, FIN de la fermentation	6 JANVIER, LIQUIDE et levure	DU 10 DÉCEMBRE AU 19 JANVIER	
				LIQUIDE clair non chauffé	LIQUIDE clair chauffé
	milligr.	milligr.	milligr.	milligr.	milligr.
Levure de brasserie.	55	12,0	Néant.	Néant.	8,0
— de Médoc . . .	53	31,0	Néant.	Néant.	22,5
— de Sauternes .	58	33,5	Traces.	Néant.	33,5
— de Monbazillac.	53	32,5	Traces.	20	25,0
— de Lussac. . .	52	35,0	Traces.	20	28,0

La production et la disparition de l'aldéhyde ont donc suivi la marche de l'expérience précédente pendant et après la fermentation du sucre. Dans les liquides clairs non chauffés, la désaldéhydification est toujours plus intense que dans les liquides chauffés, comme pour les vins. Entre les capacités de désaldéhydification des divers liquides fermentés, il y a des différences qui paraissent en relation avec la race de la levure.

Dans le cas des fermentations viniques où la nature du moût et le mélange des races de levure sont variables, le phénomène présente des variations analogues qui dépendent aussi des conditions techniques de la vinification.

Présence d'une réductase. — Le pouvoir réducteur de la levure est connu depuis longtemps, et d'après Harden, ce pouvoir se retrouve dans le suc de levure et dans la zymine, qui contiennent une réductase. Elle peut passer en partie dans le liquide fermenté où sa présence se décèle par diverses actions réductrices, telles que la décoloration du bleu de méthylène ou la réduction des aldéhydes. On peut même la faire agir sur l'aldéhyde en dehors de son milieu primitif après précipitation par l'alcool, comme dans l'expérience suivante :

Un vin complètement désaldéhydifié provenant d'un moût de raisin ayant fermenté à l'abri de l'air avec une quantité assez importante de levure, fut concentré dans le vide à moitié

de son volume et traité ensuite par deux volumes d'alcool fort. Le précipité filtré au bout d'une heure fut redissous dans l'eau alcoolisée à 10 p. 100 et acidulée par 0,5 p. 100 d'acide tartrique. Quant au liquide de précipitation, il fut distillé pour chasser l'alcool et ramené ensuite à son volume primitif. Avec la solution diastasique et ce liquide résiduel, on fit divers essais qui donnèrent les résultats suivants :

EXPÉRIENCES DU 6 MAI		RÉSULTATS DU 16 MAI	
NATURE DES ESSAIS	ALDÉHYDE ajouté	ALDÉHYDE restant	ALDÉHYDE disparu
	milligr.	milligr.	milligr.
1° Solution diastasique non chauffée . . .	60	28	32
2° Solution diastasique chauffée	60	45	15
3° { 50 p. 100 sol. diastasique non chauffée. 50 p. 100 liquide résiduel.	60	23	37
4° { 50 p. 100 solut. diastasique chauffée. 50 p. 100 liquide résiduel	60	55	5

Donc la présence de la réductase s'est accusée d'une façon certaine dans la solution diastasique non chauffée, et l'on voit que son action est beaucoup plus marquée lorsqu'elle est replacée dans son milieu primitif.

Influence de l'aération sur la réductase. — Un liquide fermenté complètement désaldéhydifié servit à faire les essais indiqués dans le tableau suivant contenant les résultats obtenus au bout d'un mois environ.

NATURE DES ESSAIS	ALDÉHYDE AJOUTÉ par litre	ALDÉHYDE DISPARU par litre
	milligr.	milligr.
1° Liquide non chauffé.	40	40
2° { 50 p. 100 liquide non chauffé . . 50 p. 100 liquide chauffé.	40	19
3° Liquide chauffé	40	3
4° Liquide nature après 1 jour d'aération . .	40	20
5° Liquide nature après 3 jours d'aération . .	40	14
6° Liquide nature après 6 jours d'aération . .	40	10
7° Liquide nature après 10 jours d'aération . .	40	Traces.

On voit que l'aération avait fini par détruire complètement les propriétés désaldéhydifiantes de ce liquide fermenté, dans lequel d'ailleurs, il ne se formait que des traces d'aldéhyde pendant l'exposition à l'air.

Fermentation en présence d'acide sulfureux. — Dans un travail sur l'acide sulfureux combiné dans les moûts et les vins publié récemment, j'ai montré que la fermentation d'un moût de raisin contenant de l'acide sulfureux combiné produit une quantité d'aldéhyde supérieure à celle qui correspondrait au passage de tout l'acide dans le composé C^2H^4O, SO^2. Sous cette forme, l'aldéhyde résiste beaucoup mieux à l'action réductrice du milieu fermenté, comme le montre l'expérience suivante faite dans des conditions très favorables à la désaldéhydification.

De l'eau de levure, additionnée de moût de raisin et contenant environ 20 grammes de sucre par litre, reçut 100 milligrammes d'aldéhyde : 1° à l'état libre; 2° à l'état d'acide aldéhyde-sulfureux.

La fermentation ayant eu lieu en tubes scellés, on trouva les résultats suivants au bout d'un mois.

	ALDÉHYDE LIBRE	ALDÉHYDE COMBINÉ
	—	—
Témoin non fermenté	100 milligr.	100 milligr.
Liquide fermenté	Néant.	75 milligr.

Donc, même en présence de la levure, l'action réductrice du milieu n'a pu faire disparaître que 25 milligrammes d'aldéhyde combiné à SO^2, alors qu'à l'état libre, les 100 milligrammes ajoutés ont disparu, et ce chiffre aurait sans doute pu être beaucoup plus important.

Nous avons vu précédemment que, dans le vin, l'acide sulfureux empêche complètement la désaldéhydification, pour la même raison que dans cette dernière expérience.

Rôle des mycodermes. — Le *Mycoderma vini* est bien connu comme agent d'aldéhydification, et M. Trillat, notamment, a donné des résultats qui établissent nettement ce rôle. J'indiquerai cependant ceux que j'ai obtenus de mon côté en cultivant le mycoderme à l'état pur, sur de l'eau de levure alcoolisée, dans un vase à large surface et avec courant d'air.

Le tableau suivant contient des chiffres trouvés dans cette expérience.

DATES	ALCOOL	ALDÉHYDE par litre milligr.
—	—	—
1er juin	9°0	»
8 juin	8°9	40
15 juin	8°8	80
29 juin	8°5	60
15 juillet	6°8	50
3 août	6°0	40
25 septembre	5°4	20

La proportion d'aldéhyde a augmenté jusqu'à 80 milligrammes par litre au début du développement de la couche mycodermique, puis elle a diminué de plus en plus, à mesure que l'alcool était consommé par la plante en plus grande quantité. Il semble que cette combustion plus énergique de l'alcool entraînait en même temps une oxydation plus intense de l'aldéhyde qui est vraisemblablement un produit intermédiaire de la réaction.

Peu de temps après le dernier dosage d'aldéhyde, une addition d'alcool fut faite au liquide pour ramener le titre aux environs de 9°; deux jours après, la dose d'aldéhyde était remontée à 40 milligrammes, et elle ne dépassa pas ensuite 50 milligrammes par litre.

Aucun doute n'existe actuellement sur l'origine physiologique de cette production d'aldéhyde; dans le cas présent cette origine fut prouvée par l'absence d'une formation sensible d'aldéhyde dans le même liquide de culture contenant du *Mycoderma vini* stérilisé et conservé dans les mêmes conditions que celui de la culture active.

D'après les recherches de M. Voisenet, le *Mycoderma vini* donnerait, à côté de l'aldéhyde acétique, des traces d'aldéhyde formique qui peuvent être mises en évidence avec le réactif spécial qu'il a indiqué et que nous retrouverons plus loin.

J'ai pu confirmer ce résultat, non seulement en étudiant la culture précédente, mais surtout avec un vin qui était resté très longtemps, avec une couche abondante de fleurs à sa surface, dans un fût à moitié plein et qui contenait une forte dose

de produits aldéhydiques. En effet, la réaction Voisenet donnait dans les deux cas une coloration violette, qui était particulièrement intense pour le vin (1).

Les mycodermes acétifiants sont des producteurs d'aldéhydes analogues au précédent, avec prédominance considérable pour l'aldéhyde acétique également. On sait qu'il y a des races assez nombreuses de ces organismes dont l'activité varie beaucoup. J'indiquerai les résultats que j'ai obtenus avec deux microbes A et B, ayant tous les deux l'aspect du *Mycoderma aceti* de Pasteur, et qui avaient été ensemencés séparément dans un même vin stérilisé :

	ACIDITÉ VOLATILE par litre	ALDÉHYDE par litre
	—	—
Mycoderme A	87 gr. 4	60 milligr.
Mycoderme B	72 gr. 0	600 milligr.
Vin témoin stérilisé.	0 gr. 7	25 milligr.

L'aldéhyde produit étant, sans aucun doute, un terme de passage entre l'alcool et l'acide acétique, on voit que le microbe A était un agent d'acétification supérieur au microbe B ; mais celui-ci avait l'avantage de provoquer la décoloration rapide du vinaigre, grâce à la production de cette grande quantité d'aldéhyde comprenant une notable proportion d'aldéhyde formique, ce dernier étant un agent de coagulation des matières tannoïdes bien plus actif que l'aldéhyde acétique.

Rôle des ferments anaérobies. — Les diverses races de ferments filiformes des vins peuvent se cultiver, comme je l'ai montré depuis longtemps, dans un liquide type constitué par de l'eau de levure sucrée avec du moût de raisin et alcoolisée à 5 p. 100 au moins.

Dans ces cultures, non seulement on ne rencontre pas d'aldéhyde, mais, au contraire, le liquide jouit de propriétés réductrices pour les aldéhydes (aldéhyde acétique, acroléine, etc.) au moins aussi énergiques qu'avec les levures.

(1) La présence d'aldéhydes autres que l'aldéhyde acétique dans les produits de la distillation des liquides étudiés se décelait déjà par le réactif à la rosaniline décolorée, car la coloration obtenue était très persistante, tandis qu'avec l'aldéhyde acétique cette coloration est assez fugace, surtout pour de faibles doses.

Ainsi, avec quatre microbes d'origine différente, j'ai obtenu les résultats ci-dessous :

ORIGINE DES MICROBES	NATURE DES LIQUIDES DE CULTURE	ALDÉHYDE AJOUTÉ LE 8 AVRIL	ALDÉHYDE RETROUVÉ LE 5 MARS
		milligr,	milligr.
Vin amer. . . .	Naturel.	60	Néant.
	Chauffé.		56
Vin tourné . . .	Naturel.	60	Néant.
	Chauffé.		55
Piquette rouge tournée. . . .	Naturel.	60	Néant.
	Chauffé.		60
Piquette blanche filante.	Naturel.	60	Néant.
	Chauffé.		58

Ces liquides de culture, où l'aldéhyde ajouté avait si complètement disparu, étaient en outre capables de réduire le bleu de méthylène; ils contenaient donc vraisemblablement une réductase sécrétée par les microbes. Quand ces organismes se développent dans le vin en cuve, en barrique ou en bouteille, ils augmentent toujours les propriétés désaldéhydifiantes du milieu, indépendamment des modifications qu'ils apportent à sa constitution.

Présence d'acroléine dans les vins amers. — Les recherches de M. Voisenet ont montré que les produits aldéhydiques que l'on peut extraire des vins amers contiennent de l'acroléine, dont l'origine semble être l'attaque de la glycérine par le ferment de la maladie.

A l'aide du réactif acide chlorhydrique nitreux et albumine employé par M. Voisenet, j'ai pu obtenir la réaction qu'il indique pour l'acroléine, avec plusieurs vins altérés de la Dordogne et de la Gironde. Mais j'estime que la relation qui paraît exister entre la maladie du vin et la présence de l'acroléine est encore très vague, malgré les conclusions de M. Voisenet, tirées de ses cultures du ferment de l'amertume. Cette opinion résulte des essais que j'ai faits personnellement avec le liquide de culture indiqué comme étant favorable au développement de ce ferment, et qui est constitué par le liquide minéral de Laurent peptonisé et glycériné. En effet, avec

aucun des microbes isolés des vins amers que j'ai étudiés, je n'ai obtenu aucun développement sensible dans ce milieu liquide, qu'il fût aéré ou qu'il fût privé d'air.

Par contre, j'ai trouvé dans l'eau de la ville de Bordeaux, comme M. Voisenet dans celle de Dijon, un microbe apte à se développer dans le liquide glycériné contenu dans des matras Pasteur, en donnant des produits volatils réagissant comme l'acroléine sur le réactif spécial. Mais ce microbe n'a aucun des caractères des organismes capables de vivre dans le vin, car il est essentiellement aérobie et ne se développe pas si le liquide est alcoolisé à 5 p. 100 seulement. En outre, ensemencé dans le liquide type des ferments filiformes du vin en tubes anaérobies, cet organisme ne s'y est pas multiplié. Il n'y a donc pas d'assimilation possible entre ce microbe de l'eau et le ferment de l'amertume, et celle qui a été faite par M. Voisenet me paraît absolument illusoire, d'autant plus qu'il n'a établi aucun contrôle ayant pour but de faire admettre que le microbe isolé de son vin amer était bien le ferment de l'amertume, et non un microbe banal se retrouvant dans l'eau potable.

On peut accepter cependant que le ferment de l'amertume peut être la cause de l'existence d'acroléine dans les vins altérés, mais on ne sait pas si cette acroléine que l'on trouve surtout dans les vins amers très vieux, en bouteilles, ayant coulé plus ou moins, et par conséquent très oxydés, résulte de l'action directe du microbe sur la glycérine, ou bien si elle n'est que le résultat de l'oxydation d'un produit intermédiaire.

Conclusions. — Parmi les organismes microscopiques qui vivent dans le vin, seuls les aérobies facultatifs (levures diverses) et les aérobies stricts (mycodermes) sont des producteurs d'aldéhyde. Certains ferments anaérobies paraissent donner de l'acroléine en attaquant la glycérine du vin, mais cette action physiologique a besoin d'être mieux étudiée.

Les levures et les microbes anaérobies sécrètent dans le vin des réductases qui peuvent contribuer à la désaldéhydification complète du vin s'il est conservé à l'abri de l'air, mais qui ne peuvent agir sensiblement sur l'aldéhyde combiné à l'acide sulfureux.

VI. — Conclusions générales.

Les agents catalytiques et physiologiques d'aldéhydification du vin qui ont été étudiés exercent leur influence principalement sur les vins jeunes pendant la conservation en barriques qui favorise plus ou moins le contact du vin avec l'oxygène de l'air. Mais à côté de ces influences qui tendent à faire augmenter l'aldéhyde, il y a des influences contraires au moins aussi importantes puisqu'elles peuvent entraîner la désaldéhydification complète du vin lorsqu'il est maintenu à l'abri de l'air. C'est pour cette raison qu'on ne trouve jamais que de très petites quantités d'aldéhyde dans les vins rouges conservés normalement, et qu'elles sont toujours combinées à l'acide sulfureux provenant des méchages, tandis que dans les vins blancs, elles sont en général beaucoup plus importantes, à cause du mode de vinification et grâce à l'emploi de plus fortes doses d'acide sulfureux qui fixent l'aldéhyde de la même manière.

L'aldéhydification toujours si réduite des vins rouges normaux ne peut donc avoir une action bien sensible sur la précipitation des matières tannoïdes; et, dans le cas des vins cassables, l'aldéhyde ne joue aucun rôle puisqu'il ne se forme qu'après une oxydation très avancée de ces matières. De même, pendant le vieillissement normal et prolongé en bouteille, l'aldéhydification et son influence sur le dépouillement du vin sont à peu près nulles, comme je l'ai montré encore mieux dans un travail sur le vieillissement du vin, où l'influence des ferments des maladies anaérobies sur l'aldéhydification a été également plus étudiée.

Enfin l'aldéhydification, combattue par la désaldéhydification, n'a qu'une influence passagère, mais toujours défavorable, sur le bouquet des vins rouges en barrique. Elle est également nuisible aux vins blancs lorsque l'acide sulfureux fait défaut, parce qu'elle correspond à une madérisation plus ou moins prononcée. Seuls, les vins spéciaux qui tirent d'une oxydation énergique une partie de leurs qualités, peuvent bénéficier de l'aldéhydification parce qu'elle se transforme bientôt en une acétalisation qui est favorable au développement du bouquet caractéristique de ces vins.

VII. — Bibliographie.

Berthelot. — Sur les éthers contenus dans les vins et sur quelques-uns des changements qui s'y produisent (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. LVII, 1863).

Pasteur. — *Études sur le vin*. Paris, 1866.

Trillat. — L'aldéhyde acétique dans le vin : son origine et ses effets (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXII, 1908).

Dubourg. — Étude sur l'*Helycomycelium fuliginosum* (*Mémoires de la Société des Sciences phys. et nat. de Bordeaux*, t. III, 1903).

Kayser et Demolon. — Influence de l'aération sur la formation des produits volatils dans la fermentation alcoolique (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXLVIII, 1909).

Roeser. — Sur la formation d'aldéhydes pendant la fermentation alcoolique (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, 1893).

Trillat et Sauton. — Rôle des levures dans la formation de l'aldéhyde acétique en milieu alcoolique (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXIV, 1910).

— Sur la disparition de l'aldéhyde en présence des levures (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXIV, 1910).

S. Kostytschew. — Sur la formation d'aldéhyde acétique dans la fermentation alcoolique (*Ber. d. deutschen chem. Ges.*, t. XLV, 1912).

S. Kostytschew et E. Hubbenet. — Sur la formation d'alcool éthylique aux dépens de l'aldéhyde acétique par la levure vivante et la levure tuée (*Zeitschrift f. physiol. Chem.*, t. LXXXIII, 1912).

S. Kostytschew. — Les conditions de la formation de l'aldéhyde acétique dans la fermentation par la levure tuée (*Zeitschr. f. physiol. Chemie*, t. LXXXIII, 1913).

Passerini. — *Stazione sperim. Agr. Ital.*, vol. XXIV, p. 221).

Martinand. — De l'emploi de l'acide sulfureux en vinification (*Bulletin de la Société des Agriculteurs de France*, 1910).

R. Peltier. — L'aldéhyde, sa formation et sa disparition dans la fermentation alcoolique (*Procès-verbaux de la Société des Sciences phys. et nat. de Bordeaux*, 27 novembre 1913).

J. Laborde. — L'acide sulfureux combiné dans les moûts et les vins (*Revue de Viticulture*, 1916).

C. Neuberg et J. Kerb. — Sur les processus de la fermentation par la levure (*Ber. der deutsch. chem. Ges.*, t. XLVI, 1913).

A. Harden et R. Norris. — Les Enzymes qui restent dans la zymine et la levure sèche de Lebedew après lavage à l'eau (*Biochemical Journal*, t. VIII, p. 100, 1914).

Voisenet. — Formation d'acroléine dans la maladie de l'amertume des vins (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CL, 1910).

Stoecklin. — Nouvelle méthode permettant de déceler des traces d'alcools, (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CL, 1910).

Gouiraud. — Sur la présence d'une diastase dans les vins cassés (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXX, 1895).

Martinand. — Action de l'air sur le moût de raisin et le vin (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXXI, 1895).

J. Laborde. — Sur la casse des vins (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXXII, 1896).

— Sur l'oxydase du *Botrytis cinerea* (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXXV, 1898).

Bouffard et Semichon. — Procédés de vinification basés sur les propriétés de l'oxydase des raisins (*Revue de Viticulture*, t. IX, 1898).

Cazeneuve. — Sur le ferment soluble oxydant de la casse des vins (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXXIV, 1897).

Trillat. — Sur les propriétés de la formaldéhyde (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXIV, 1892).

Martinand. — La casse des vins (*Revue de Viticulture*, t. IX, 1898).

— Sur l'origine des dépôts de la matière colorante des vins rouges (*Revue de Viticulture*, t. XXVIII, 1907).

J. Laborde. — Sur l'absorption d'oxygène dans la casse des vins (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXXV, 1897).

— Étude sur les matières tannoïdes du vin (*Revue de Viticulture*, 1910).

Voisenet. — De la production de petites quantités d'aldéhyde formique dans l'oxydation de l'alcool éthylique par voie chimique, physique et physiologique (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CL, 1910).

J. Laborde. — Sur les ferments des maladies des vins (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXXVI, 1898).

— Sur le ferment de la maladie des vins poussés ou tournés (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXXXVIII, 1904).

— Recherches sur le vieillissement des vins (*Mémoires de la Société des Sciences phys. et nat. de Bordeaux*, 1916).

Voisenet. — Nouvelles recherches sur les vins amers et la fermentation acrylique de la glycérine (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CLI, 1910).

— Sur un ferment contenu dans les eaux, agent de déshydration de la glycérine (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1904).

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

Ouvrage reçu par les ANNALES :

Laboratory Manual
in
GENERAL MICROBIOLOGY

Prepared by the
Laboratory of Bacteriology, Hygiene and Pathology
Michigan Agricultural College.

FIRST EDITION

NEW-YORK : John Wiley & Sons, Inc.
LONDON : Chapman & Hall, Limited.
1916

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXXI. — 1917. Juin. — N° 6.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE M. PASTEUR

PAR

E. DUCLAUX



PARIS

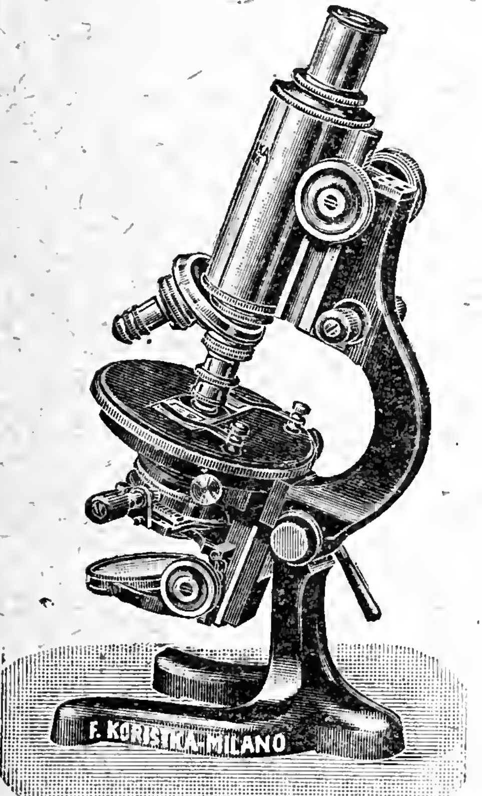
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : 18 francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : 20 francs.

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

SOMMAIRE DU N° 6




F. KORISTKA-MILANO

31e ANNÉE JUIN 1917 N° 6

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

ÉTUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES ET PROPHYLACTIQUES DU PALUDISME

TREIZIÈME ET QUATORZIÈME CAMPAGNES EN ALGÉRIE EN 1914 ET 1915 (1)

par EDMOND SERGENT et ÉTIENNE SERGENT

(Institut Pasteur d'Algérie.)

ÉTUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

Les deux années 1914 et 1915 ont été particulièrement intéressantes au point de vue du paludisme : en 1914, les fièvres ont subi une recrudescence sensible en de nombreuses localités, et en 1915, on assista à une épidémie générale, présentant parfois un caractère extrêmement violent. Cette épidémie de 1915 rappelle celle de 1904. Les cas mortels ont été nombreux.

I. — GITES A ANOPHÉLINES

Contrairement à la longue série des années précédentes qui ont été sèches, les années 1914 et 1915 ont été marquées par

(1) Campagne dirigée pour le compte du Gouvernement général de l'Algérie. Pour les campagnes précédentes, voir : *Annales de l'Institut Pasteur* et *Atti della Società per gli Studi della Malaria*, Rome. Les rapports complets publiés chaque année par le Gouvernement général de l'Algérie peuvent être demandés à l'Institut Pasteur d'Algérie.

des hivers et surtout des printemps pluvieux. La nappe souterraine qui s'était progressivement abaissée chaque année, depuis un lustre, est remontée, depuis 1914, un peu partout, et le colon qui, en maint endroit, craignait la sécheresse, ne manque plus d'eau dans son puits ou sa noria, mais risque, lorsqu'il n'utilise pas son excédent d'eau, de favoriser l'éclosion du paludisme parmi les habitants de sa ferme, paludisme dont il est la première victime.

Cet excédent d'eau peut avoir été amené artificiellement par le colon : une ferme située dans la Mitidja (à Mouzaïaville) est salubre depuis dix ans; pour augmenter le rendement des vignes, on creuse, au printemps de 1914, plusieurs puits artésiens dont l'eau abondante, n'ayant pas assez d'écoulement, stagne dans les fossés. Les Anophèles y pullulent et propagent chez les habitants de la ferme le virus des indigènes voisins.

Les conditions nouvelles créées par la guerre ont favorisé en beaucoup d'endroits la pullulation des Anophèles. En 1914, la mobilisation générale a enlevé brusquement aux campagnes algériennes une notable proportion de travailleurs européens : les grands chantiers de nettoiement des canaux des régions marécageuses ont suspendu leurs travaux; dans beaucoup de propriétés particulières, l'entretien des canaux d'irrigation, des drains, a été négligé. Les chantiers antilarvaires du Service antipaludique ont dû, à cause de la guerre, arrêter leur fonctionnement pendant quelques mois.

Pyterophorus myzomyifacies. — Nous notons une fois de plus que le *Pyretophorus myzomyifacies*, très répandu en Algérie, est un insecte essentiellement nocturne; sa présence peut rester tout à fait insoupçonnée des habitants de la région infestée.

Anopheles algeriensis. — Pour la première fois, on constate l'existence d'*Anopheles algeriensis* (variété paraissant exclusivement printanière) à une altitude de 900 mètres (près de Sebdou).

Prétendue absence des Anophèles en pays paludéen. — Les localités paludéennes d'Algérie prétendues indemnes d'Anophèles font, dès qu'on nous les signale, l'objet d'enquêtes dont le résultat a été toujours jusqu'ici positif : à Aïn-Bessem, où le paludisme a été violent en 1915, les Anophèles n'ont pas manqué.

Remuement de terre et paludisme. — Pas plus qu'auparavant, nous n'avons vu en 1914 ni en 1915 les *remuements de terre* coïncider avec l'aggravation de

paludisme, comme le prétendent encore certains colons. Dans de très nombreux endroits incultes, il y a eu de la fièvre, tout comme dans ceux où des défoncements, des travaux de terrassement étaient effectués.

II. — RÉSERVOIR DE VIRUS

1° *Tableaux des index endémiques.*

Index endémiques relevés en 1914.

		Nombre des grosses rates		Proportion
Enfants :	de 0 à 5 ans	30 sur 490	154 sur 1.303	**12,5** p. 100
	de 6 à 10 ans	74 sur 612		
	de 11 à 15 ans	50 sur 201		
Adultes au-dessus de 15 ans			30 sur 280	10,7 p. 100
	Totaux		184 sur 1.583	11,6 p. 100

Ces rates ont été palpées en 1914 dans les localités suivantes :

Département d'Alger : Attatba, Birtouta, Boufarik, Chéragas, Chiffa, Marengo, Montebello, Mouzaïaville, région de l'ancien lit de l'Oued Djer, Maison-Carrée, Bouïra, Aïn-Boucif.

Département de Constantine : Mondovi, Guébar, Barral.

Index endémiques relevés en 1915.

		Nombre des grosses rates		Proportion
Enfants :	de 0 à 5 ans	40 sur 160	208 sur 1.182	**17,5** p. 100
	de 6 à 10 ans	104 sur 613		
	de 11 à 15 ans	64 sur 409		
Adultes au-dessus de 15 ans			142 sur 668	21,2 p. 100
	Totaux		350 sur 1.850	18,9 p. 100

Ces rates ont été palpées en 1915 dans les localités suivantes :

Département d'Alger : Attatba, Birtouta, Boufarik, Chéragas, Chiffa, Maison-Carrée, Marengo, Montebello, région de l'ancien lit de l'Oued Djer, Oued-el-Alleug, Tizi-Ouzou, Aumale, Oued Fodda, Oued Chaïr.

Département de Constantine : Mondovi, Saint-Paul, Sedrata, Morris, Jemmapes, Robertville.

Département d'Oran : Tourville, Sainte-Léonie, Ferme-Blanche, Debrousseville, Sebdou.

2° *Tableau des résultats des examens microscopiques du sang de sujets habitant des localités paludéennes.*

NOMBRE D'EXAMINÉS en 1914		PARASITÉS PAR L'HÉMATOZOAIRE			CORPS en DEMI-LUNE	CORPS en PESSAIRE	Avec GROSSE RATE
		Tierce bénigne	Tierce maligne	Quarte			
Fébricitants . . .	51	26	9	4	3	2	36
Non fébricitants .	80	15	0	0	3	5	45
Totaux.	131	41	9	4	6	7	81
		54					

(4 fois infection simultanée par tierce bénigne et par tierce maligne.)

NOMBRE D'EXAMINÉS en 1915		PARASITÉS PAR L'HÉMATOZOAIRE			CORPS en DEMI-LUNE	CORPS en PESSAIRE	Avec GROSSE RATE
		Tierce bénigne	Tierce maligne	Quarte			
Fébricitants . . .	37	30	7	4	2	3	40
Non fébricitants .	439	103	57	2	1	3	241
Totaux.	476	133	64	6	3	6	281
		203					

(5 fois infection simultanée par tierce bénigne et par tierce maligne, 2 fois par tierce bénigne et par quarte.)

3° *La mobilisation*, survenue au moment de la canicule, a favorisé la dissémination et l'exaltation du virus paludéen. La garde des voies ferrées, des ponts, des barrages, nécessitée par l'état de guerre, a obligé de nombreux militaires à séjourner au fond de vallées humides, au bord d'oueds à mares stagnantes.

Le paludisme a fait parmi eux de très nombreuses victimes.

4° *Danger colporté par les migrateurs.* — Dans la Mitidja, les *Guebla* misérables venus du Sud ont déterminé, en 1914 et en 1915, des épidémies meurtrières dans certaines fermes.

5° *Le parasite de la tierce bénigne* a causé, à lui seul, la mort de nombreux européens et indigènes. Certaines épidémies locales, très meurtrières, n'ont été déterminées que par lui. La tierce maligne a été, comme les années précédentes, moins fréquente que la tierce bénigne.

6° *La fièvre bilieuse hémoglobinurique*, qui reparaît plus intense chaque fois que l'épidémie de paludisme est plus générale et plus violente, a été signalée, en 1914 et en 1915, dans la Mitidja et dans la région de Bône, Aïn-Mokra (plusieurs cas mortels) et à Batna.

ÉTUDES PROPHYLACTIQUES

Malgré la guerre et la mobilisation d'une partie du personnel du Service antipaludique, la lutte antipaludique a été poursuivie en 1914 et en 1915 dans les mêmes localités que les années précédentes.

1° La *quininisation des indigènes*, destinée à atténuer le réservoir de virus, a été continuée, en 1914 et 1915, par dix-huit agents sous la direction des médecins locaux. Quelques-uns de ces agents, ayant été mobilisés, ont été remplacés par leur femme ou par des agents intérimaires.

Le nombre de personnes quininisées au moyen d'*agents quininisateurs* a oscillé, en 1914 et 1915, entre 3.000 et 3.500 personnes environ (indigènes pour la plupart; 500 environ sont d'origine espagnole).

Trente-cinq *institutrices et instituteurs* en 1914, vingt-cinq en 1915 ont quininisé leurs élèves à l'école (de 600 à 1.000 enfants dont la très grande majorité européens).

Le Service antipaludique emploie la *dragée de quinine* (à 20 centigrammes de chlorhydrate de quinine), dont 230 kilogrammes ont été utilisés par le Service antipaludique en 1914, soit 92 kilogrammes de chlorhydrate, et 215 kilogrammes en

1915, soit 86 kilogrammes de chlorhydrate, et, pour les jeunes enfants qui ne peuvent pas avaler la dragée, les *chocolatines au tannate de quinine*, dont 250 boîtes de 25 pastilles ont été utilisées en 1914, soit 937 grammes de tannate, et 336 en 1915, soit 1.260 grammes de tannate. Ce dernier médicament nous rend de grands services pour la quininisation des tout petits; son succès va grandissant en Algérie. Le goût âpre que laisse dans la bouche le tannate de quinine et qui rebute bien des grandes personnes paraît passer inaperçu des enfants, qui sont séduits par le goût du chocolat.

2° *Les petites mesures antilarvaires* ont été, en plusieurs points, interrompues quelque temps par la guerre. La conséquence a été la réapparition des fièvres, que la reprise des travaux eut vite réprimée; là où les travaux n'ont pas été interrompus, les résultats ont été excellents.

A Robertville, le paludisme, qui ne faisait presque plus de victimes depuis cinq ans que la lutte antipaludique y a été engagée, a fait une nouvelle apparition en 1914 au moment où les travaux antilarvaires ont été brusquement interrompus (août et septembre). La reprise des travaux en octobre fit cesser rapidement les cas de fièvre et, en 1915, tandis que les centres voisins, non protégés, étaient très éprouvés, celui de Robertville, où se continuait pour la sixième année la prophylaxie antipaludique, n'était presque pas touché.

3° *La défense mécanique des habitations*, au moyen de grillages, est continuée par les Compagnies de chemins de fer et par certaines administrations.

Nous conseillons l'extension de l'emploi de la *moustiquaire portative*; au cours des campagnes antipaludiques organisées en Algérie depuis quatorze ans, on s'est attaché à expérimenter un mode pratique de défense pour les personnes destinées à voyager.

En 1902 (1), nous avons muni les agents de la gare de l'Alma d'un casque en moelle de sureau dont les larges bords supportent une voilette cylindrique de tulle portant deux coulisses; la supérieure se serre autour du casque, l'inférieure sous le col rabattu du veston. Les larges bords du casque tiennent le tulle à bonne distance de la peau. Les employés ont chacun deux paires de gants de gros fil, qu'ils doivent mettre l'une sur l'autre. On leur

(1) Ces *Annales*, t. XXVII, p. 68, janvier 1903. Résumé du rapport sur la campagne antipaludique organisée en 1902 à la gare de l'Alma (Est algérien), par Edmond Sergent et Etienne Sergent.

recommande de fermer par un élastique le bas de leur pantalon. Malheureusement, l'emploi de ces voilettes et des gants a été fort négligé par les agents, comme nous avons pu nous en assurer.

C'est courir au-devant d'un échec que de vouloir imposer une voilette et des gants, en été (le jour ou la nuit) à des ouvriers agricoles ou à des soldats. Nous estimons que, pour être fructueux, l'effort doit se borner à



Fig. 1. — Moustiquaire et sa monture, chacune dans son sac.

essayer d'assurer *la protection au moment le plus dangereux*. Or c'est pendant le sommeil, qui nous livre sans défense, que nous sommes surtout piqués par les Anophélines.

La moustiquaire que nous conseillons pour l'usage personnel est la moustiquaire de lit (fig. 1 à 6). Elle a l'avantage de pouvoir être placée *sur n'importe quel lit*, *sur un matelas étendu par terre*, *sur une natte*, *une toile de sac*, *sans qu'il soit nécessaire de l'accrocher ou de la suspendre*.

Le poids de la monture, en fil de laiton, est de 450 grammes; elle est composée de 10 morceaux de 26 centimètres de long; le tulle est en mousseline de soie, de forme rectangulaire, ayant 4m50 sur 3m50; il ne pèse avec son sac que 260 grammes. Au moyen de cette monture, qui forme arceau à la

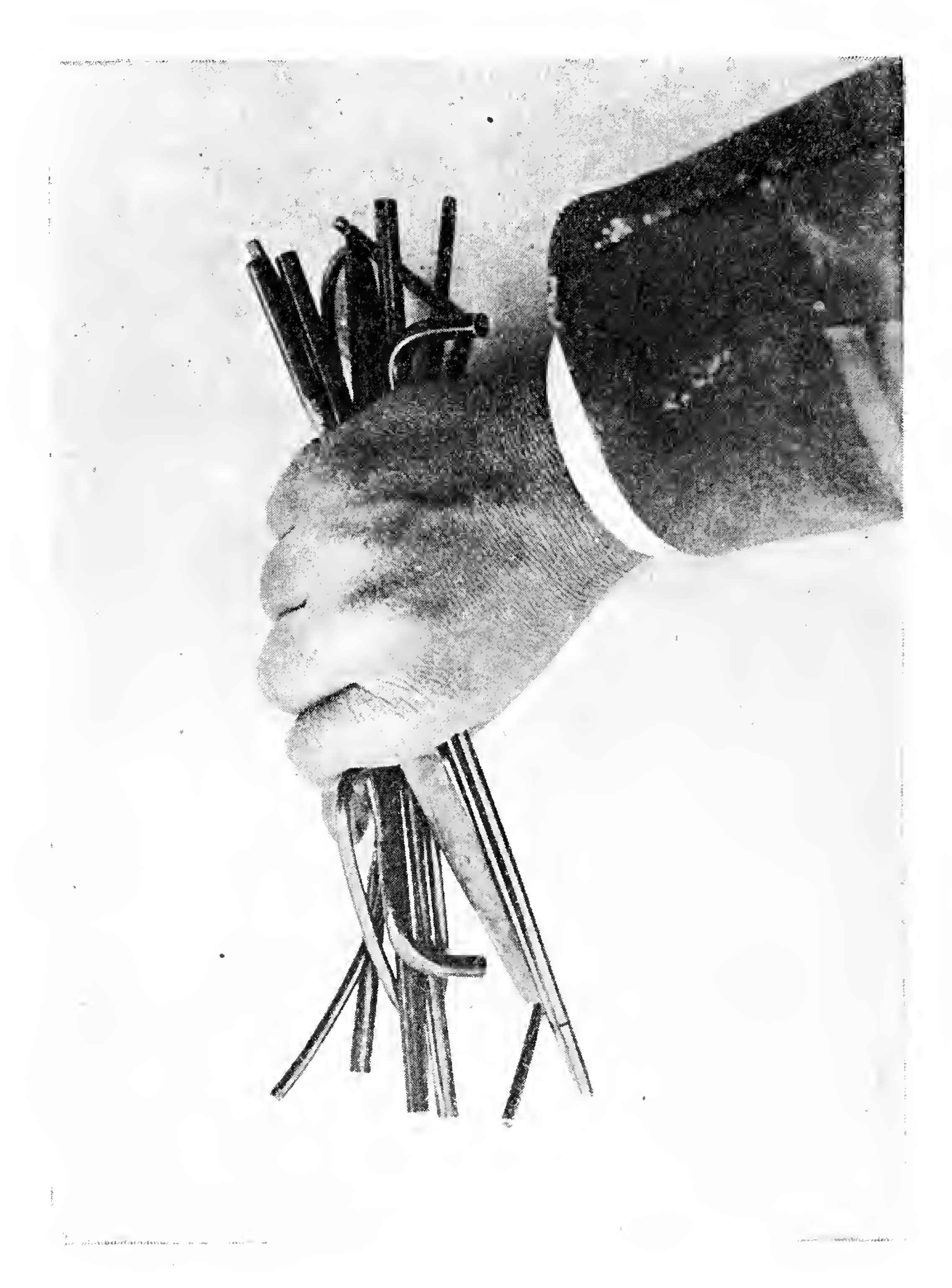


Fig. 2. — Pièces de la monture de la moustiquaire.

tête du lit, on se protège au printemps ou en automne, c'est-à-dire au moment où l'on se couvre encore les jambes avec une couverture. En été, où souvent l'on rejette les draps à cause de la chaleur, on se sert, pour l'arceau du pied du lit, d'une monture complémentaire démontable, comprenant 8 morceaux de 26 centimètres de long. Le poids total de la monture est alors de 810 grammes. Le tulle employé avec la première monture peut servir avec cette deuxième. On l'étend sur les deux arceaux et on le borde sous le matelas ou la couverture, ou la natte, ou la toile de sac sur laquelle on se couche. L'extrémité inférieure de la monture peut être maintenue par la can-

tine, les souliers, un caillou. Ainsi est appliqué le principe de toute moustiquaire : un sac clos.

C'est la moustiquaire dont nous nous servons pour la nuit et à l'heure de la sieste, chaque fois que nous séjournons en pays palustre, en Algérie.

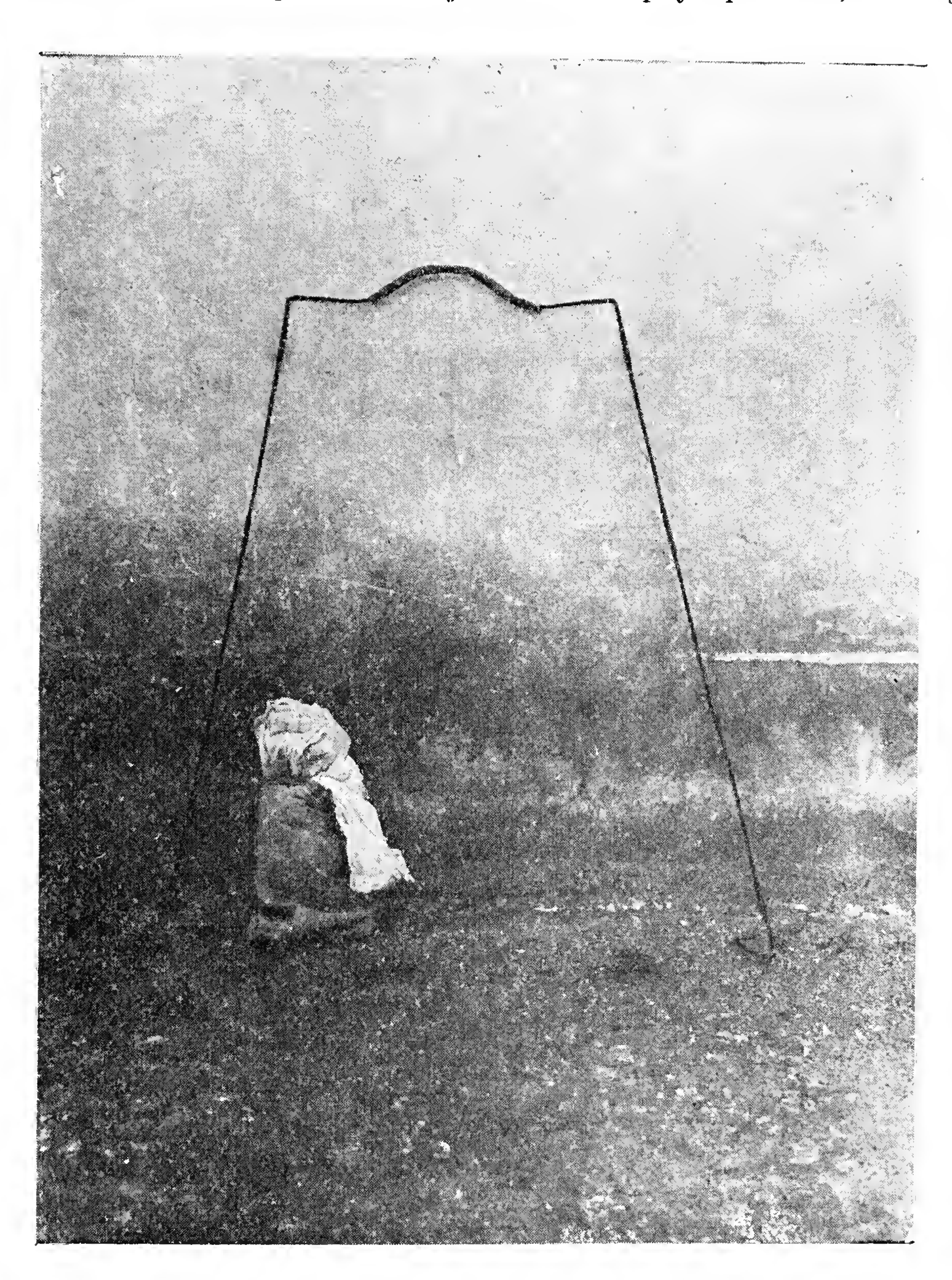


Fig. 3. — Monture de la moustiquaire, dressée.

Nous l'avons employée sur les terrasses de Biskra, en plein air dans les oasis et dans les salles d'attente de gares isolées.

* * *

Nous n'avons pas négligé, malgré la guerre, de continuer la *propagande antipaludique*, par les brochures, manuels et « petits conseils » sous forme de tracts.

I. — CHAMPS DE DÉMONSTRATION

C'est à *Montebello* (département d'Alger), ce champ de démonstration où la lutte antipaludique est menée depuis 1904,

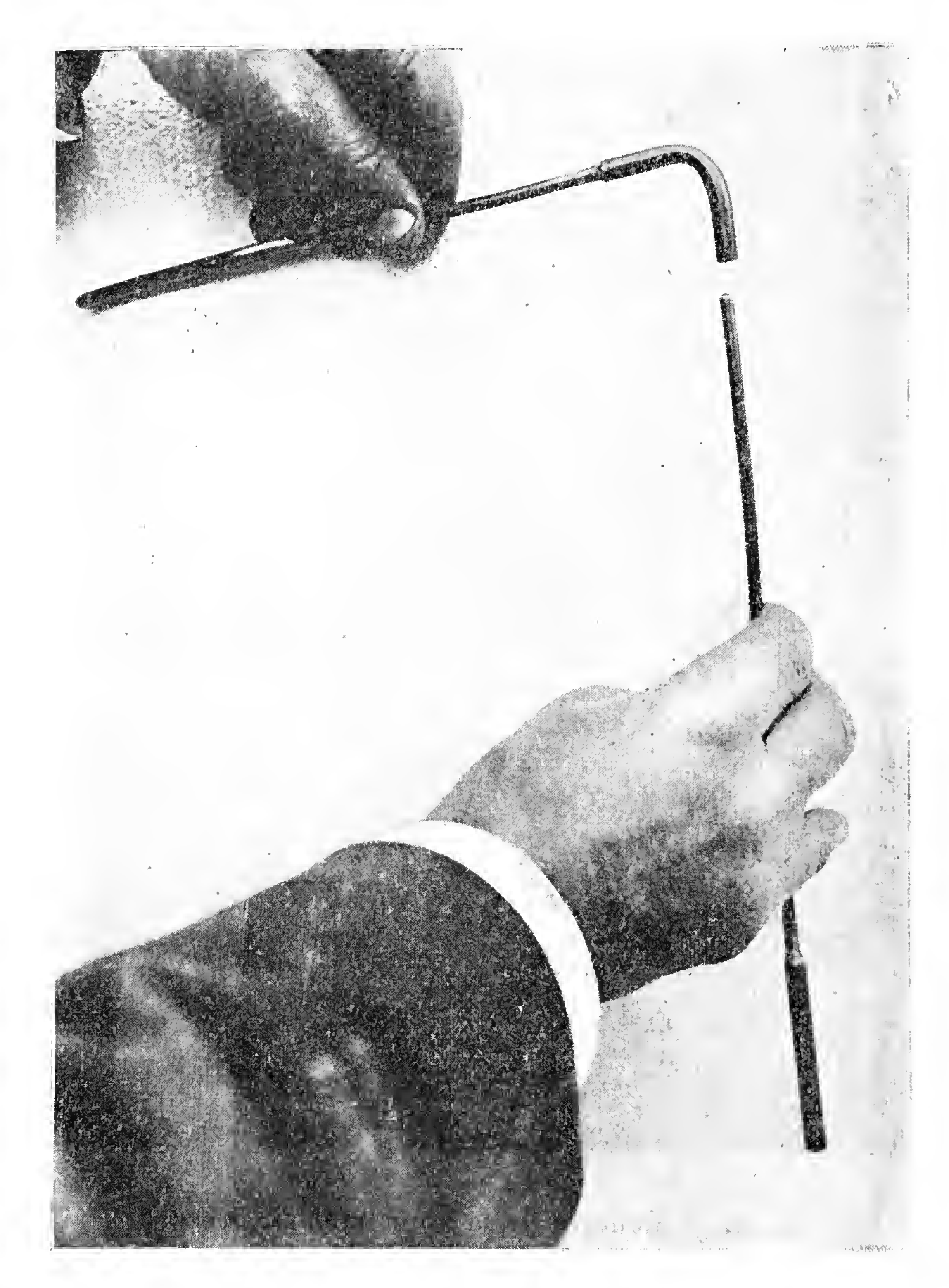


Fig. 4. — Façon d'ajuster l'une à l'autre deux pièces de la monture.

que l'on a observé le fait le plus saillant en 1914-1915. Depuis dix ans, les mesures antilarvaires, menées sans arrêt chaque année d'avril à décembre, avaient suffi pour tenir en échec la pullulation des Anophèles, malgré les conditions hydrographiques extrêmement favorables à la vie des larves : cuvette

lacustre à évacuation très lente. On avait ainsi obtenu ce résultat remarquable : depuis le début de la campagne 1904, il n'avait pas été contracté un seul cas de paludisme à Montebello.

La guerre survient et occasionne une contre-épreuve. En 1914, par suite de la mobilisation, les travaux antilarvaires, qui constituent à Montebello la base de la lutte antipaludique, ont dû être complètement arrêtés pendant tout le mois d'août. Cet arrêt involontaire de la lutte, en plein été, eut comme résultat un retour offensif du paludisme : 2 cas de paludisme de première invasion éclatèrent au village. En 1915, par suite de l'état de guerre, les travaux antilarvaires à Montebello sont abandonnés sans surveillance pendant deux mois d'été; plusieurs cas de paludisme apparaissent.

Ce fait démontre, une fois de plus, d'une façon éclatante, la nécessité d'une surveillance étroite de toute mesure prophylactique dirigée contre le paludisme.

Résumé des 11e et 12e campagnes à Montebello.

Protégés. — Européens, 140; indigènes, 200 environ.

En 1914, pas un cas de première invasion avant l'interruption des travaux par suite de la guerre. 1 cas ensuite.

En 1915, après trois mois d'interruption des travaux, 10 cas de première invasion.

Témoins. — Localités voisines : En 1914, au moins 10 cas de première invasion.

En 1915, très nombreux cas dans toute la région voisine.

A *Tourville* et à *Sainte-Léonie*, champ de démonstration du département d'Oran, très insalubre avant les campagnes, l'état sanitaire s'est maintenu bon en 1914-1915.

Résumé des 9e et 10e campagnes à Tourville et Sainte-Léonie.

Protégés. — Européens, 2.400; indigènes, 400 environ.

En 1914 et en 1915, pas de cas de paludisme.

Dans les localités immédiatement voisines, qui ont toujours été saines, pas de paludisme. Parmi les militaires entrés à l'hôpital d'Arzew, 4 p. 100, venant du camp voisin de Saint-Leu, ont été hospitalisés pour paludisme.

A *Mondovi*, champ de démonstration du département de Constantine, la lutte est particulièrement difficile; ce bourg est



Fig. 5. — Moustiquaire montée sur le sol, avec un seul arceau (printemps et automne.)

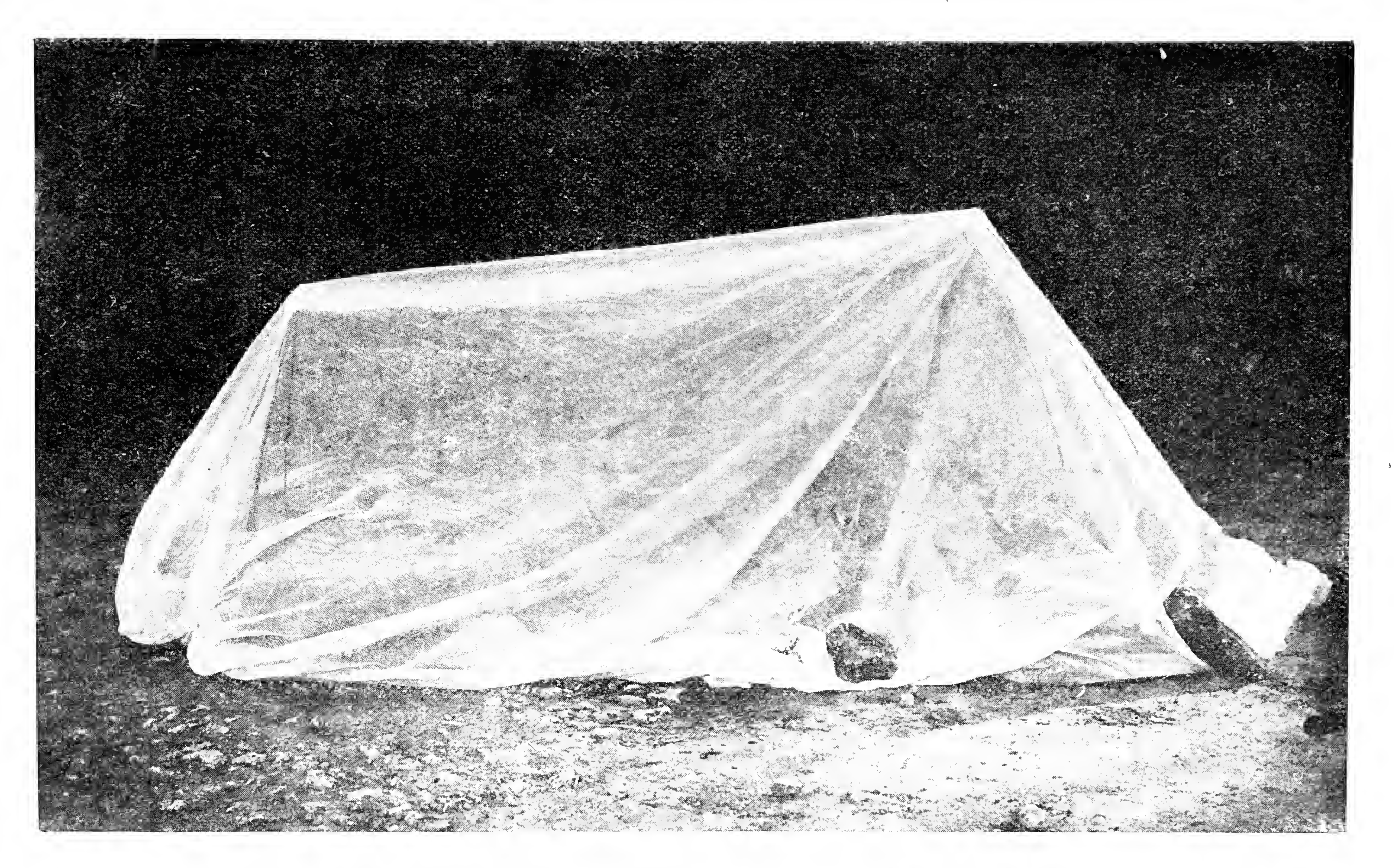


Fig. 6. — Moustiquaire montée sur le sol, avec deux arceaux (été).

situé entre une rivière et un canal d'irrigation : outre les Anophélines nées à proximité, il se produit chaque année, fait particulier à la région, des invasions de moustiques provenant de grandes distances.

Avant le début de la campagne, les cas de paludisme y étaient beaucoup plus nombreux et plus graves que dans la région environnante. Quelques cas se produisent encore, mais en moins grand nombre que dans les localités voisines. Pour apprécier la diminution du paludisme à Mondovi, il faut se rappeler que cette maladie y était pandémique avant les campagnes antipaludiques.

Résumé des 8e et 9e campagnes à Mondovi.

Protégés. — 1.800 Européens environ; 1.400 indigènes.

En 1914, 2 cas de première invasion (chez les témoins, 5 cas chez 656 personnes des localités voisines).

En 1915, le nombre des cas de fièvres à Mondovi est plus fort qu'en 1914, mais bien moindre que dans les localités voisines.

II. — AUTRES CAMPAGNES ANTIPALUDIQUES

Les campagnes antipaludiques sont organisées en Algérie, sur la demande des habitants et avec la collaboration des médecins locaux, dans la limite des crédits disponibles.

Des mesures antilarvaires ont été exécutées, sous la direction des médecins, à Brazza (département d'Alger), à Arlal, au Domaine de l'Habra (département d'Oran) et à Taher, à Robertville et à Gambetta (département de Constantine).

La quininisation a été aussi effectuée dans les mêmes localités.

Elle a été la mesure principale prise dans d'autres localités :

Département d'Alger : Attatba, Birtouta, Boufarik, Chéragas, Chiffa, Harrach, région de l'ancien lit de l'Oued Djer, Oued-el-Alleug, Marengo, Adélia Brazza, Vialar.

Departement d'Oran : Arlal, Montagnac, Domaine de l'Habra.

Département de Constantine : Gambetta, Penthièvre, Robertville, École d'Aïn-Khiar, École de Bayard, École d'El-Hannser, École de Foy, École de Jemmapes, École de Lannoy, École du Mexna, École de Siliana, École du Vieux-Biskra, Taher.

III. — ENQUÊTES

Des enquêtes prescrites par l'État sur les conditions épidémiologiques du paludisme ont été effectuées par le Service antipaludique en 1914 et en 1915, sur les emplacements de 3 futurs centres de colonisation et de 6 villages; sur la demande de particuliers, dans 6 localités des 3 départements.

IV. — CHEMINS DE FER

Les Compagnies de tous les réseaux de chemins de fer algériens continuent à mettre en œuvre, chaque année, les mesures antipaludiques, dans leurs gares et maisonnettes fiévreuses, sous la direction des ingénieurs et d'agents spéciaux.

La collaboration bienveillante de nos confrères, de l'Administration supérieure, des Administrations départementales et communales, des ingénieurs et agents des ponts et chaussées et chemins de fer, des institutrices et instituteurs, nous crée le devoir agréable de les remercier ici vivement. L'aide du personnel enseignant est particulièrement précieuse au Service antipaludique.

Nous remercions aussi les agents du Service antipaludique, M. Pellegrin, inspecteur, et les quininisatrices et quininisateurs, qui ont montré du zèle et du dévouement dans l'accomplissement de leur tâche.

CONCLUSIONS

L'observation attentive des efforts faits pendant quatorze années pour appliquer les procédés de la prophylaxie antipaludique dans des localités fiévreuses de l'Algérie, a montré, en résumé, que :

1° Partout est possible l'amendement du réservoir de virus paludéen par la quininisation, à domicile, des indigènes, par un agent européen (dragée rose de chlorhydrate de quinine pour les grandes personnes; pour les jeunes enfants, chocolatine au tannate de quinine).

2° En certaines localités, les mesures antilarvaires suffisent à maintenir en échec les Anophélines. Lorsqu'il est possible d'appliquer ces mesures, éventualité qui se rencontre fréquemment en Algérie, elles constituent une partie très importante des moyens de lutte contre les fièvres.

3° La défense mécanique (grillages ou moustiquaires individuelles), procédé efficace et indispensable pour se protéger complètement, ne s'est étendue que dans certaines administrations et chez certains particuliers. Elle mérite de se répandre bien davantage, car elle met à l'abri non seulement des Moustiques, mais des Mouches, cette autre plaie des pays chauds.

SUR LA RÉSORPTION DU CATGUT

par A. GORIS et P. ROLLAND.

(Avec les planches V et VII.)

Au cours de nos recherches sur le catgut, l'importance de la résorption de cette ligature dans les tissus ne nous avait pas échappé. Après quelques essais d'inclusion dans le péritoine du cobaye, nous avions prié notre ancien interne en pharmacie à la Maison municipale de Santé, M. Rolland, actuellement chef de laboratoire du Dr Cunéo, de vouloir bien nous faire quelques expériences se rapprochant davantage des conditions de la pratique chirurgicale.

Les quelques faits publiés aujourd'hui ne peuvent être considérés que comme les préliminaires d'un travail plus général sur la résorption du catgut. Toutefois ils apportent déjà certaines indications intéressantes pour le chirurgien.

Tout le mérite en revient à M. Rolland, qui a imaginé les techniques et suivi attentivement les différentes phases de la résorption. Cette étude, qui d'ailleurs relève plus du domaine chirurgical que du domaine pharmaceutique, sera longue, mais, à en juger par les expériences en cours, conduira certainement à des résultats de première importance. Dans cette voie, je suis très heureux de m'effacer devant mon ancien élève, convaincu qu'il saura mener à bonne fin ce travail si séduisant de la résorption des fils chirurgicaux.

Nous profitons de cette occasion pour remercier le Dr Cunéo de l'intérêt qu'il a bien voulu prendre à ces recherches sur la résorption du catgut.

A. G.

*
* *

Nous avons institué une série d'expériences ayant pour but d'étudier la résorption de catguts fabriqués d'après des formules différentes. Cependant nos essais tendaient moins à déterminer

exactement en combien de jours tel ou tel catgut se résorbait, qu'à saisir le mode de résorption et à apprécier dans quelle mesure peuvent influer sur cette résorption les traitements chimiques que l'on fait subir soit aux catguts finis, soit aux lanières conjonctives qui les constituent.

Il est logique de penser que l'écartement des lanières constituant le brin de catgut doit faciliter la résorption en favorisant la pénétration phagocytaire. La confection du nœud pouvant produire mécaniquement cet écartement, nous avons cru devoir faire deux séries d'expériences, l'une portant sur la résorption d'un brin rectiligne, l'autre sur la résorption d'un catgut noué dans les conditions chirurgicales habituelles.

Nous nous sommes servis, à cet effet, des cordes préparées spécialement suivant les formules ci-après. Chaque corde était d'une grosseur aussi égale que possible, 50 centièmes à 55 centièmes de millimètre, grosseur correspondant à un catgut n° 1 (n° 5, classification décimale).

Formule I. *Catgut eucalyptolé.* — Préparation des lanières et de la corde suivant les méthodes habituelles et stérilisation par 5 tyndallisations successives à 60° de dix heures chacune, en tubes scellés et dans l'alcool eucalyptolé à 10 p. 100.

Formule II. *Catgut iodé A.* — Immersion des lanières conjonctives dans la solution iodo-iodurée au cinq millième pendant vingt-quatre heures. Traitement au bisulfite de soude dilué au deux millième pour éliminer l'iode; torsion des lanières et stérilisation par tyndallisation répétée comme plus haut, mais dans l'alcool à 90° simple.

Formule III. *Catgut iodé B.* — Même formule que le catgut iodé A, mais sans traitement par le bisulfite. L'iode reste fixé en partie sur la corde.

Formule IV. *Catgut chromé.* — Immersion des lanières dans l'acide chromique au millième pendant vingt-quatre heures; passage dans le bisulfite de soude dilué au deux millième, torsion des lanières et stérilisation selon le même procédé que pour la formule II.

Formule V. *Catgut au nitrate d'argent.* — Immersion des lanières dans le nitrate d'argent au millième pendant vingt-quatre heures : lavage à l'eau, torsion des lanières et stérilisation selon le même procédé que pour la formule II.

Formule VI. *Catgut au collargol.* — Immersion des lanières dans la solution de collargol au millième pendant vingt-quatre heures; lavage à l'eau; torsion des lanières et stérilisation comme pour la formule II.

Formule VII. *Catgut à l'oxycyanure de mercure.* — Immersion des lanières dans l'oxycyanure de mercure au millième pendant vingt-quatre heures;

lavage à l'eau; torsion des lanières et même stérilisation que pour la formule II.

Formule VIII. *Catgut au formol.* — Immersion des lanières dans la solution de formol à vingt millième pendant vingt-quatre heures; lavage à l'eau; torsion des lanières et stérilisation par le même procédé que pour la formule II.

Formule IX. *Catgut au protargol.* — Immersion des lanières dans le protargol au millième pendant vingt-quatre heures; lavage à l'eau, torsion des lanières et stérilisation par tyndallisation d'après la formule II.

Formule X. *Catgut oxygéné.* — Immersion des lanières dans l'eau oxygénée au demi pendant vingt-quatre heures; lavage à l'eau, torsion des lanières et stérilisation selon le même procédé que pour la formule II.

Tous ces catguts ont été faits avec le même nombre de lanières. Les catguts formule I et X correspondent donc à des cordes analogues aux produits commerciaux. Pour les autres, on peut voir que tous les traitements chimiques ont été faits *avant la torsion*, c'est-à-dire avant l'obtention de la corde elle-même.

PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Cette première série d'expériences a été faite sur des cobayes de 500 grammes environ et d'après le mode opératoire suivant :

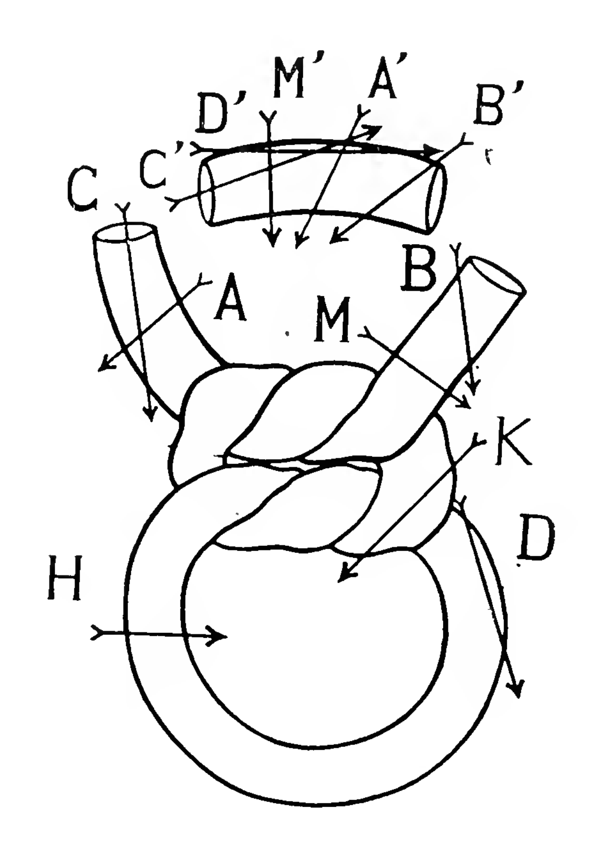
Les cuisses des animaux ont été savonnées, rasées et passées à l'iode au vingtième. Un aide maintenant le cobaye, l'opérateur traverse la masse musculaire postérieure de la cuisse avec une aiguille de Reverdin, droite et fine. Un deuxième aide charge sur l'aiguille le catgut à expérimenter ; l'opérateur retire l'aiguille de la masse musculaire et décroche le catgut. Il suffit alors, au moyen d'une pince de Péan ou mieux d'une pince à disséquer sans griffes, stérile, de pincer légèrement les muscles, les mors de la pince étant placés presque au niveau des orifices de transfixion (1). L'opérateur coupe le catgut avec des ciseaux stériles aussi près que possible de la peau, retire la pince et malaxe légèrement entre le pouce et l'index, avec une compresse stérilisée, la masse musculaire qui contient le catgut,

(1) Cette manœuvre a pour but de réduire le diamètre transversal de la masse musculaire et de favoriser l'inclusion aussi parfaite que possible d'un brin de catgut d'une longueur inférieure à ce diamètre.

	APRÈS 10 JOURS	APRÈS 19 JOURS	APRÈS 31 JOURS	APRÈS 48 JOURS
FORMULE I *Catgut eucalyptolé* Pl. V (fig. 1, 2, 3, 4)	Les macrophages forment un manchon assez dense, mais n'ont pas encore abordé le catgut; léger œdème musculaire (fig. 1).	Les macrophages ont abordé le catgut. Quelques-uns ont pénétré par les fissures de torsion. L'œdème a presque disparu (fig. 2).	La pénétration des macrophages n'a pas gagné sensiblement en profondeur. Les extrémités des catguts dont la pénétration devrait être plus facile ne sont pas envahies (fig. 3).	Le catgut ne paraît pas être notablement plus modifié qu'après 31 jours. Pas un macrophage n'a atteint le centre (fig. 4).
FORMULE X *Catgut oxygéné*	*Idem.*	*Idem.*	*Idem.*	Un accident nous a empêché de retrouver cette pièce.
FORMULE II *Catgut iodé A*	*Idem.*	Paraît nettement plus envahi par les macrophages que les catguts n^os I et X.	La pénétration des macrophages a continué plus rapide et plus active que pour les catguts n^os I et X.	Catgut très altéré surtout aux extrémités. Les macrophages ont pénétré dans les moindres fissures divisant le brin de catgut en nombreuses fibrilles.
FORMULE III *Catgut iodé B* Pl. V (fig. 5, 6); Pl. VI (fig. 7, 8, 9)	Même anneau de macrophages, mais accolé assez intimement au brin. Pénétration en de nombreux endroits (fig. 6).	Envahi jusqu'au centre par les macrophages, ce catgut commence à se désagréger d'une façon importante (fig. 7).	Les brins de catgut sont arrivés à un état de dilacération avancée (fig. 8). Commencement d'organisation (fig. 8).	Catgut à demi résorbé et réduit à l'état de fibres conjonctives sans adhésion entre elles (fig. 9).

pour favoriser le retour rapide des muscles à leur volume primitif et mobiliser la peau, qui vient, grâce à ce léger massage, obturer la plaie musculaire. Enfin, on enduit les orifices de transfixion de collodion iodoformé ou aristolé pour assurer une occlusion et une asepsie suffisantes.

Huit cobayes ont été ainsi mis en expérience avec des catguts eucalyptolés, oxygénés, iodés A et iodé B, le 13 juillet 1916. Ils ont été sacrifiés successivement le 24 juillet, le 2, le 14 et le 31 août, c'est-à-dire dix, dix-neuf, trente et un et quarante-huit jours après l'opération. Les masses musculaires contenant les catguts ont été excisées, fixées au liquide de Müller, incluses dans le collodion et coupées. L'examen des coupes colorées à l'hématéine-éosine a fourni les résultats contenus dans le tableau ci-contre. La figure ci-jointe indique la direction des coupes. Toutefois, pour plus de clarté, le schéma représente un brin de catgut rectiligne et un nœud simple au lieu du nœud chirurgical employé au cours de nos expériences.



Directions des coupes, rappelées dans les légendes des planches V et VII.

DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Les expériences précédentes nous ayant démontré que les catguts I, II, III et X, introduits dans les muscles du cobaye, n'étaient pas complètement résorbés en 48 jours, nous avons fait l'expérience suivante sur un chien de moyenne grosseur dans les mêmes conditions qu'au cours d'une opération chirurgicale ordinaire sur les muscles.

Après avoir préparé et passé à l'iode la région opératoire, on incise la peau et l'aponévrose des muscles lombo-dorsaux sur une longueur de 20 centimètres environ. Avec une aiguille de

Reverdin à courbure très prononcée, on pratique neuf ligatures à 1 centimètre et demi environ l'une de l'autre, chaque ligature, à nœud chirurgical ordinaire, enserrant une masse musculaire d'un centimètre de diamètre environ. L'aponévrose est suturée avec un surjet de soie fine, les deux nœuds d'arrêt devant servir de points de repère pour la recherche ultérieure des catguts. La peau est suturée au catgut par points séparés. L'évolution de la suture est normale.

Pensant que la résorption du catgut pourrait être plus rapide chez le chien que chez le cobaye, le chien est sacrifié 34 jours après. Les catguts sont facilement retrouvés grâce aux points de repère et la masse musculaire qui les englobe, soigneusement divisée en autant de petits cubes que de ligatures. Ces pièces sont fixées, incluses, coupées et colorées suivant la même méthode que pour la série précédente.

L'examen de ces coupes nous permet de constater que les catguts sont tous modifiés dans leur texture et plus ou moins envahis par les phagocytes.

En se basant sur cette plus ou moins intense pénétration des cellules phagocytaires, on peut les classer en quatre groupes en commençant par ceux qui ont le mieux résisté à la digestion cellulaire :

Premier groupe.

Formule I. — *Catgut eucalyptolé.*
— VIII. — *Catgut formolé.*
— X. — *Catgut oxygéné.*

Ces catguts sont peu modifiés. Leurs segments sont séparés par des fissures de torsion, par lesquelles la pénétration commence à se faire. Les segments limités par ces fissures de torsion sont encore très compacts et non pénétrés par les macrophages qui, en aucun point, n'atteignent le centre du catgut. (Pl. VII, fig. 11, 12.)

Deuxième groupe.

Formule V. — *Catgut au nitrate d'argent.*
— VIII. — *Catgut à l'oxycyanure de mercure.*

Ces catguts, qui paraissent un peu plus modifiés que ceux des formules I, VIII et X, n'ont cependant pas leur centre envahi

par les cellules migratrices. Les lanières constitutives du catgut à l'oxycyanure sont assez adhérentes entre elles. (Pl. VII, fig. 13.)

Troisième groupe.

Formule IV. — *Catgut chromé.*
— IX. — *Catgut au protargol.*

La digestion cellulaire paraît plus avancée que pour les formules précédentes, les macrophages pénètrent par toutes les fissures de torsion; mais les segments, bien que très divisés, ont encore leur centre intact. (Pl. VII, fig. 14.)

Quatrième groupe.

Formule VI. — *Catgut au collargol.*
— III. — *Catgut iodé B.*

Ces deux catguts sont, pour ainsi dire, complètement transformés. Divisés en de nombreuses fibrilles conjonctives par les cellules qui les ont envahis jusqu'au centre, ils ne paraissent plus, à ce stade, pouvoir être d'aucune utilité comme ligature. (Pl. VI, fig. 10; pl. VII, fig. 15, 16.)

Conclusions.

En prenant comme critérium d'appréciation la plus ou moins intense pénétration des catguts par les cellules migratrices, on peut poser les conclusions suivantes :

1° Par ordre de résistance décroissante, nos différents catguts se rangent ainsi : catgut eucalyptolé (I), formolé (VIII), oxygéné (X), au nitrate d'argent (V), à l'oxycyanure (VII), chromé (IV), protargolé (IX), collargolé (VI), iodé B (III).

2° D'après nos coupes, nous pouvons affirmer que les traitements chimiques que l'on fait subir aux lanières n'augmentent pas toujours la durée de résorption, qui nous parait déjà suffisamment longue pour le catgut oxygéné ordinaire.

3° Certaines de ces substances, en particulier l'iode et le collargol, paraissent au contraire provoquer une modification beaucoup plus rapide du catgut.

4° La pénétration des macrophages se fait d'abord par les

fissures de torsion; elle ne paraît pas plus active au niveau des extrémités sectionnées, contrairement à l'opinion généralement admise.

5° La rapidité de résorption des catguts dépend donc de la qualité physique de la corde, et secondairement de la nature des substances chimiques qui l'imprègnent. Une corde dont les lumières ne sont pas très adhérentes est plus rapidement résorbable qu'une corde homogène qui se laisse difficilement pénétrer par les macrophages. D'autre part, la modification du catgut est plus rapide encore si ce dernier est imprégné d'une substance douée d'un chimiotactisme positif vis-à-vis des phagocytes.

DEUXIÈME CAMPAGNE D'EXPÉRIMENTATION DE LA MÉTHODE D'HÉRELLE AU MAROC CONTRE *SCHISTOCERCA PEREGRINA* OLIVIER

(MARS-JUILLET 1916)

par H. VELU
Vétérinaire aide-major de 1re classe,
Chef du Laboratoire de Recherches du Service de l'Élevage,
à Casablanca.

La campagne d'expérimentation du procédé d'Hérelle contre *Schistocerca peregrina*, au Maroc, en 1915 (Voir ces *Annales*, t. XXX, p. 388, août 1916) avait démontré un certain nombre de faits, parmi lesquels nous tenons à rappeler :

Que les conditions de réussite tiennent surtout à l'époque à laquelle ont lieu les contaminations.

Le moment le plus favorable étant celui où les criquets vivent en masses compactes, se déplacent lentement, et où l'acridiophagie, principal facteur de contamination, est portée à son degré maximum. Ces expériences venaient donc corroborer les faits observés en Algérie par le Dr Ed. Sergent et ses collaborateurs.

En 1916, nous avons vérifié nos conclusions antérieures et cherché les résultats pratiques que l'on pouvait attendre de ce mode de destruction. Cette deuxième campagne nous a permis de faire un certain nombre d'observations, intéressantes, que nous allons envisager dans des chapitres différents :

I. — *Marche de l'invasion.*
II. — *Existence d'épizooties spontanées sur les vols d'invasion.*
III. — *Essais de contamination. Marche des épizooties provoquées.*
IV. — *Conclusions.*

I

MARCHE DE L'INVASION

Les premiers vols de sauterelles ont été signalés respectivement le 24 novembre et le 7 décembre 1915, dans la région du Sous et aux environs d'Agadir.

Vraisemblablement amené de l'Adrar, et de l'anti-Atlas, par le violent siroco du 20 novembre, le premier vol a gagné le Nord par l'étroite dépression qui conduit d'Agadir à Mogador en longeant les contreforts de la montagne; une partie des vols s'est perdue dans les hautes régions, où le froid a fait périr les insectes, tandis que le reste de la colonne, après de courtes périodes d'arrêt causées par le refroidissement et par les pluies, a survolé le territoire Chiadma le 27 et s'est dirigé vers les Almar.

Du 24 novembre au 5 décembre, des nuages de sauterelles ont été vus dans la région située au sud d'Agadir, se dirigeant vers l'Est, dans la vallée du Sous vers Taroudant. Aucun ne s'est dirigé vers Agadir et vers le Nord.

Le 17 décembre une nouvelle vague très importante, plus importante que la première, est signalée le 17 au nord-est d'Agadir, chez les Ida ou Tanan et les Aït Ameur. Elle passe le long de la chaîne du Mouissat dans les derniers jours de décembre; une fraction traverse les M'touga et arrive le 14 janvier à Ben Guérir. La masse de la colonne parvient le 3 janvier 1916 au sud-est du cercle Abda et se divise en deux parties : l'une d'elles se dirige au nord-ouest et gagne Safi; l'autre, la plus importante, remonte vers la limite Est des Abda, gagne les Doukkala, arrive à l'Oum er Rbia le 17 janvier, puis envahit le territoire de Settat.

Par ailleurs, des vols considérables passent le 23 décembre à Chichaoua Amizmiz, Irmintanout et arrivent à Marrakech le 24 décembre. D'autres vols sont signalés à El Kelaa (nord-ouest du cercle des Shraghna) le 4, le 6, le 11, et le 13 janvier venant de l'Ouest.

Le 4 janvier, un vol très important venant du Sud-Est, passe sur Agadir, les Ksima et Mesguina. Il est rabattu par le

vent vers les Haouara et séjourne presque tout le mois chez les Haha-Chiadma. A partir du 4 janvier, le poste d'Agadir ne signale plus de nouveaux vols.

L'invasion semble dessiner à partir de la limite Sud du territoire de Safi, les deux branches d'un croissant, qui s'étendent l'une, tout le long de la côte, l'autre dans la vallée du Tensift. Elle se développe assez rapidement vers l'Est, puisqu'elle atteint El Kelaa le 29 novembre, plus lentement vers le Nord, contrariée qu'elle est par les mauvaises conditions climatériques. La Chaouia n'est envahie qu'en janvier. Malgré le séjour prolongé des vols dans le Sud, les dégâts ont été limités. Les premiers vols n'ont atteint l'âge adulte qu'à la fin du mois de décembre. La différenciation sexuelle a commencé vers le 28 décembre. Les premières pontes n'ont eu lieu que le 24 janvier à 15 kilomètres au nord-est de Safi et le 27 janvier, dans les Aounat.

Au mois de février, les vols gagnent Camp Marchand, Monod, Tiflet.

Au 15 avril, le vol le plus avancé se trouve dans la forêt de la Mamora entre la voie ferrée de Kenitra et la route de Monod.

Les premières éclosions n'ont lieu qu'au début d'avril au nord-ouest de Safi, chez les Aounat, les Chtouka et les Ouled Fredj. Les premières pontes ont été complètement détruites par les pluies.

Au mois de mai, le 3, les sauterelles arrivent à l'Oued Kell (Guerrouan du Sud) à Meknes; le 8, elles sont à Moulay Idriss du Zehroun.

Dans le courant de juillet, tout est fini, les vols de deuxième génération *sont partis* vers le Sud.

II

EXISTENCE D'UNE ÉPIZOOTIE SPONTANÉE SUR LES VOLS D'INVASION

Au mois de décembre, le vétérinaire major Barlette observe, sur les premiers vols qui passent à Mogador, une mortalité notable avec diarrhée noire. Faute de microscope, il ne peut faire le diagnostic bactériologique de cette entérite.

Le 24 février, le vétérinaire aide-major Bouin, au cours d'une tournée dans le bled Zemrane (sud-est de Marrakech), relève également une mortalité assez considérable avec diarrhée noire. Il ensemence avec la diarrhée des tubes de gélose et isole un coccobacille très petit, plus petit que le bacille d'Hérelle; il n'en étudie pas la virulence. Tous les vols qui passent à Marrakech ou dans la région, dans le courant du mois d'avril, sont infectés; mais la mortalité est moins accusée qu'au mois de février.

Le 25 février, nous constatons l'existence de cette entérite sur les premiers vols qui passent à Casablanca. Les cadavres sont assez nombreux. Ils sont profondément infectés puisque nous trouvons un coccobacille en culture presque pure dans la sérosité musculaire des pattes de 19 p. 100 d'entre eux. Ce coccobacille est très fin, allongé en bâtonnet. La forme coccus n'existe pas. Inoculé à 20 sauterelles saines, en apparence du moins, il provoque l'apparition de la diarrhée en 7 heures et la mort en un temps moyen de 14 h. 1/2. En culture sur gélose, il donne rapidement des colonies opaques, porcelainées, légèrement odorantes, poussant plus abondamment que le bacille d'Hérelle. Par les passages en série sur sauterelles il perd vite sa forme en bâtonnet et devient coccus.

Sous l'influence de la captivité et de l'accumulation, bien que nous nous servions de cages métalliques neuves, non infectées, la maladie devient excessivement grave et meurtrière. Le 10 mars, 500 sauterelles sont mises en cage à 10 heures ; 24 heures plus tard, 70 sont mortes avec diarrhée. A la 30e heure, nous enlevons 151 nouveaux cadavres, 205 à la 48e heure et 55 à la 60e heure. Au bout de 72 heures, il ne reste plus que 5 survivantes, qui meurent à la 96e heure.

Dans ces conditions, il devient impossible de continuer les expériences destinées à l'étude de la virulence du coccobacille. Mais, avant de les interrompre, nous faisons une expérience comparative avec les insectes servant à faire les passages et conservés en cage depuis 24 heures seulement. Vingt sauterelles choisies parmi celles n'ayant pas de diarrhée sont inoculées avec de la diarrhée diluée au 1/10e provenant de sauterelles au 6e passage (cage n° 1).

Dans la cage n° 2 nous plaçons 20 témoins présumés sains.

Dans la cage n° 3, nous conservons 20 témoins ayant un peu de diarrhée, mais encore très vigoureux.

Le tableau suivant montre les résultats.

CAGES	MORTALITÉ A LA 13e heure	14e heure	16e heure	24e heure	MORTALITÉ p. 100 (24e heure)	DURÉE de la MALADIE	MORTALITÉ à la 39e heure
Cage n° 1. Sauterelles inoculées.	6	8	10	15	75 p. 100	16 h. 8/10	20
Cage n° 2. Sauterelles présumées saines.	4	6	10	14	70 p. 100	17 h. 1/2	20
Cage n° 3. Sauterelles ayant un peu de diarrhée.	9	11	13	17	85 p. 100	15 h 1/2	20

Tous les vols sont contaminés. C'est ce que nous pouvons observer le 10 mars à Settat, le 12 mars à Casablanca (ferme Amieux), le 28 mars à Sidi Messaoud (Ouled Fredj), le 18 avril à Kermouchi (Haouzia), le 24 avril à Oualidia, le 1er mai à Fedjana (Hedami).

La maladie semble évoluer surtout, à la faveur des conditions climatériques défavorables. La mortalité est si accusée que le fait frappe les indigènes. Cette infestation des vols se traduit par deux conséquences importantes :

1° *Il est absolument impossible d'exalter la virulence du coccobacille conservé* in vitro *depuis le mois de juillet* 1915, en se servant de sauterelles. Toutes les tentatives aboutissent à des échecs complets.

2° *Les criquets qui naissent au moment du passage des vols contaminés, sont contaminés, et la mortalité est surtout* accusée pendant les périodes de mauvais temps. C'est ainsi qu'à Bou Meknassi (rive gauche de l'Oum er Rebia) nous observons une mortalité de 4.000 au mètre carré, sur l'emplacement occupé pendant les journées de pluie, par des criquets âgés de dix jours, alors qu'elle est à peu près nulle sur les gîtes occupés par beau temps.

A Fedjana, une tache de criquets âgés de 12 à 15 jours contaminés vers la fin avril accuse, le 1er mai, une proportion de 5 cadavres par 4 décimètres carrés; soit 125 cadavres au mètre carré. En admettant que le chiffre moyen des criquets par litre soit de 1.000 à 1.500 et que le sol soit mi-partie nu, mi-partie couvert d'arbustes et de broussailles, la mortalité à l'hectare est de 625.000 par nuit. Elle représente très exactement le résultat obtenu avec une tranchée de 0m50 de profondeur, sur 0m50 de large et 1m66 à 2m50 de longueur. Il s'agit là, bien entendu, de la mortalité nocturne, seule visible et appréciable; dans le Sud, à partir du mois de mai, les vols de sauterelles disparaissent; les cadavres provenant des vols du mois d'avril sont desséchés, réduits en poussière, les criquets qui naissent à cette époque ne sont pas infectés, mais à Dar Bel Hamri, la contamination se produit encore. Elle est même si accusée, qu'elle frappe les indigènes, qui en rendent compte au Service des renseignements.

Notons en passant un fait intéressant. Des criquets prélevés le 18 avril, à Kermouchi, sont mis dans des cages ayant contenu des sauterelles infectées. Ils contractent la diarrhée. On choisit parmi eux ceux qui ont toutes les apparences de la santé, et on leur inocule le 23 de la diarrhée de sauterelles mortes dans les champs. La mort est presque instantanée, alors que des criquets sains, inoculés avec la même diarrhée, meurent les premiers en 6 heures, les derniers en 10 heures avec tous les symptômes de la maladie.

III

ESSAIS DE CONTAMINATION

Jusqu'au mois de mai, il a été absolument impossible d'obtenir le matériel virulent nécessaire, par suite de l'existence de la maladie autochtone dans les vols de sauterelles et les bandes de criquets.

A partir de cette époque, l'exaltation de la virulence s'est faite d'une façon normale.

Les pulvérisations ont été faites dans la région de Safi, en Chaouia dans la région de Kenitra, à Mechra-bel-Ksiri. La

quantité de bouillon pulvérisée a été de 1.600 litres. Nous nous sommes toujours servi de bouillons jeunes (24 à 36 heures), tuant en 6 heures par inoculation au laboratoire.

Les différentes observations relevées et les résultats obtenus répondent à 3 stades de développement des acridiens et comportent trois conclusions différentes :

1° Contamination de criquets jeunes au 3e stade (12 jours environ).

2° Contamination de criquets au 4e stade (12 à 20 jours).

3° Contamination de criquets aux 5e et 6e stades (plus de 20 jours).

Nous ne rapporterons ici qu'une observation ou deux de chacun de ces cas typiques.

1° Contamination de criquets jeunes au 3e stade (12 jours environ.)

Les pulvérisations sont faites à Dar-Abdel-Moulay, à 40 kilomètres à l'est de Safi, dans une plaine très peu mouvementée, entièrement cultivée en céréales et en « mazouzia » (cultures de printemps : pois chiches, lentilles, fenu-grec, maïs, sorgho, etc.).

L'orge est déjà mûre et coupée (12 mai), mais l'alpiste est encore vert. Soixante-quinze litres de bouillon sont répandus sur l'alpiste et les mazouzia, dans les différentes parties d'une tache considérable de criquets, couvrant un front de près de 6 kilomètres. Les pulvérisations sont faites *le 12 mai*, par un temps clair, de 5 à 8 heures du soir, et le 13 mai, de 5 à 7 heures du matin. Les criquets sont rassemblés par paquets extrêmement denses sur les plantes qui bordent les pistes, et plus particulièrement aux environs des croisements : le travail de contamination est donc extrêmement simplifié, et la quantité de bouillon perdue tout à fait réduite.

Dès le 15 mai, c'est-à-dire dès le troisième jour, les premiers résultats des infestations apparaissent. On observe les symptômes de l'entérite sur un grand nombre de sujets. Bientôt, tous les criquets ont la diarrhée noire caractéristique et la mortalité devient formidable.

Au bout d'une dizaine de jours, *la tache est complètement*

détruite. Ces résultats, extrêmement concluants et satisfaisants ont été relevés et enregistrés par un témoin tout à fait impartial : le lieutenant Fisse, chargé de la direction de la lutte antiacridienne par les moyens mécaniques dans le secteur est de la région de Safi. Nous sommes heureux de pouvoir le remercier très vivement ici de son extrême obligeance, et nous ne pouvons résister au plaisir de rapporter, intégralement, les termes mêmes de la lettre dans laquelle il nous faisait part de ses constatations.

Faites par un profane, elles n'en ont que plus de valeur :

« Les premiers résultats de la maladie ont apparu les troisième et quatrième jours, après l'ensemencement du bouillon. J'ai examiné très minutieusement les endroits où il avait été répandu du bouillon de culture et j'ai noté les observations suivantes :

« 1° Les criquets avaient très peu changé de place depuis le moment de l'ensemencement.

« 2° De grosses quantités de cadavres se trouvaient dans les récoltes où les criquets avaient passé la nuit; les cadavres étaient très nombreux dans les champs de haricots contaminés en premier lieu; *les cadavres y formaient une couche de 5 à 10 centimètres*, sous les tiges de haricots; dans les cultures contaminées, le lendemain matin, les résultats ont été analogues.

« Ce pourcentage est dû probablement à la quantité de bouillon de culture répandu dans les endroits infestés de criquets.

« 3° Le bouillon employé devait être très virulent, puisque les symptômes de diarrhée dysentérique ont été constatés dès le quatrième jour et puisque les malades mouraient très rapidement. J'ai observé le fait dans les pièges Ortel, installés dans l'un des petits chemins en bordure des cultures; les criquets qui s'y jetaient dans la matinée étaient morts le soir, et ceux de la nuit étaient trouvés morts le matin.

« D'une façon générale, toutes les taches de criquets contaminées ont été aussitôt immobilisées sur place; les criquets ne mangeaient plus, devenaient mous et, au bout de quelques jours, ils étaient noirâtres. Ils n'ont pas parcouru plus de 200 à 400 mètres, depuis les endroits contaminés, jusqu'au barrage, où les survivants ont été pris.

« On a prélevé immédiatement de grandes quantités de criquets malades qui ont été répandues en avant d'autres colonnes non infestées; les résultats ont été favorables et il est très possible de créer des foyers secondaires, mais uniquement parmi des criquets de même stade. J'ai envoyé des criquets à Djelidat et les résultats n'ont pas été concluants, les criquets étant d'ailleurs plus âgés que ceux qui étaient malades.

« Le secteur que vous avez contaminé serait déjà débarrassé de criquets (24 mai) si l'on n'avait pas été envahi depuis par des colonnes venant du Nord.

« Lieutenant Fisse. »

Nous n'ajouterons que quelques mots à cette observation complète et consciencieuse :

Le virus qui a été employé pour ces contaminations provenait de passages faits par criquets plus âgés que ceux de Dar Abdel Moula. Les déplacements peu importants des taches signalés par le lieutenant Fisse, doivent être attribués au jeune âge des criquets infectés (10 à 12 jours au plus) et non à la maladie.

Tous les autres faits signalés confirment complètement les conclusions que nous formulions dans notre rapport sur la campagne de 1915.

2° Contamination de criquets au 4e stade
(12 à 20 jours.)

Les pulvérisations de cette série ont été faites dans la plaine de Khremisset, cultivée surtout en blé et en orge. Les criquets se déplacent déjà rapidement, parcourant plusieurs centaines de mètres par jour et parfois même un kilomètre et plus, le long des pistes; ils ne rentrent dans les cultures que le soir, au moment où le soleil est déjà assez bas sur l'horizon pour que les pistes soient dans l'ombre. Plus de 300 litres de bouillon sont répandus sur les différentes taches de la région, du 17 au 20 mai.

Dès le troisième jour, les premiers signes de l'épizootie apparaissent. En pressant sur l'abdomen des criquets ramassés dans les pièges Ortel, il est très facile d'obtenir la goutte noire pathognomonique de l'affection.

Comme les déplacements sont encore assez limités et les colonnes assez compactes, les criquets sains dévorent les malades, dont ils ne laissent guère que la tête. Il est très difficile de préciser les résultats et de les traduire par des chiffres moyens de mortalité au mètre carré. Les cadavres, ou plutôt les débris de cadavres, semblent localisés à certains points, probablement mieux abrités contre le vent; ils sont en partie cachés par le chaume très épais et très élevé de cette région (le Marocain ne coupe que l'épi; les tiges laissées sur pied servent de pâture aux animaux). Les pulvérisations ont été cependant efficaces puisque, un mois après, il était encore possible de retrouver une assez grande quantité de débris de pattes et de têtes dans les blés, où avaient séjourné les criquets infectés.

L'emploi des moyens mécaniques a permis d'arriver, dans cette région, à la destruction complète de tous les criquets que l'épizootie avait épargnés.

3° Contamination de criquets au 5e et 6e stade (plus de 18 à 20 jours.)

Les criquets arrivés au 5e stade sont, en général, formés en colonnes importantes. La densité au mètre carré est beaucoup plus faible qu'aux stades précédents; elle varie, d'ailleurs, dans de très grandes proportions, suivant que les colonnes sont en marche ou en station. En terrain nu, les criquets effectuent chaque jour des déplacements considérables qui atteignent 3, 4 et même 5 kilomètres sur piste par les journées chaudes. Dans les jardins, les vergers, seules pâtures encore vertes à cette époque de l'année, les criquets s'arrêtent et séjournent parfois longtemps; puis ils reprennent leur course, sans qu'on puisse émettre la moindre hypothèse sur la cause de ce départ.

Les pulvérisations de cette série ont donné des résultats très différents, suivant qu'elles ont été faites dans les jardins et pépinières ou en plein bled.

a) *Pulvérisations en plein bled.* — Ces contaminations ont été faites très largement. Près de 800 litres de bouillon ont été pulvérisés entre Mazagan et Casablanca, dans la région située

en bordure de la mer chez les Chtoukas, les Ouled-Harriz, les Soualem. Les pontes avaient été excessivement nombreuses et les criquets formaient sur tout ce vaste territoire une colonne ininterrompue pendant près de 80 kilomètres.

Il a été impossible d'observer un seul résultat. La maladie a-t-elle provoqué une grosse mortalité, et les cadavres ont-ils été répartis sur de trop grandes surfaces pour pouvoir être retrouvés? ou bien, du fait de la plus faible densité des colonnes, la maladie n'a-t-elle pas évolué et ne s'est-elle pas propagée?

Nous ne pouvons affirmer qu'une seule chose, c'est que si la méthode d'Hérelle s'est montrée inefficace sur ces masses formidables de criquets âgés, les moyens mécaniques se sont, de leur côté, montrés tout aussi incapables d'empêcher l'envahissement de Sidi-Ali, de Ber-Rechid et de Casablanca.

D'autres pulvérisations ont été faites dans des conditions tout à fait identiques à Lalla-Mimouna et Mechra-Bel-Ksiri (Gharb), mais sur des colonnes de faible importance. Elles n'ont donné que très peu de résultats. La maladie a évolué, mais au bout de quelques jours une sélection naturelle s'est opérée : les criquets malades ont été rapidement distancés par les criquets sains. Ils sont restés en arrière du gros de la colonne et ils ont été, dès lors, perdus au point de vue de la contagion et de la propagation de l'épizootie.

b) *Pulvérisations dans les jardins.* — Elles ont été effectuées à Kenitra, dans les jardins et la pépinière du Service du Génie, sur ces criquets âgés de 25 à 30 jours. Le bouillon a été projeté le 10 juin, sur les arbres et arbustes, acacias, figuiers, cerisiers, ricins, etc. Dès le deuxième jour, les premiers symptômes de diarrhée sont apparus. La mortalité était très nette dès le troisième jour. Les criquets sont restés 6 jours dans les jardins et il nous a été facile de constater la présence d'un grand nombre de cadavres sous les arbres et les arbustes. Des chantiers très actifs de destruction mécanique fonctionnaient un peu partout. Chaque jour, le sol était balayé sous les arbres du jardin du Service de Santé et sous ceux du Service du Génie; cependant, le sixième jour, deux heures après le nettoyage, il était possible de ramasser au moins cinq ou six cadavres au mètre carré; c'est dire que, sur un hectare semblable, il mourait *par jour* 5 à 600.000 criquets. Comme il faut

environ 5 à 600 criquets de ce stade pour remplir un litre, le résultat obtenu par la méthode biologique dans un tel hectare pendant les 4 jours où les criquets ont séjourné, a donc été sensiblement le même que celui obtenu avec une tranchée de $0^{m}50$ de large sur 16 mètres de longueur, remplie d'une couche de criquets de $0^{m}50$ d'épaisseur.

Le 16 juin, les criquets ont quitté les jardins et se sont formés en colonne se dirigeant vers la forêt. Les malades et les contaminés sont restés soit sur les arbres où avaient été faites les pulvérisations, soit tout le long du chemin parcouru. Les cadavres encore nombreux le premier jour étaient très rares le surlendemain. Bientôt, il fut impossible de déceler et encore moins d'évaluer même approximativement la mortalité.

La sélection s'était complétée. Les survivants semblaient indemnes.

IV

CONCLUSIONS

Des faits observés pendant la campagne de 1915, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

Il peut exister sur les vols d'invasion des épizooties d'entérite contagieuse provoquée par un coccobacille du même groupe que le bacille d'Hérelle. La gravité de ces épizooties est variable. *Elles empêchent l'exaltation de la virulence du coccobacille d'Hérelle conservé* in vitro.

Les criquets qui naissent au moment du passage des vols contaminés sont infectés par les cadavres.

L'entérite coccobacillaire des sauterelles est, peut-être, une maladie plus commune dans la nature qu'on ne le croit actuellement. La mortalité observée en 1910 par le Dr d'Hérelle en Amérique est peut-être fréquente en Afrique. Il est possible que ce soit la cause de la disparition des vols pendant plusieurs années et de la longue périodicité des invasions.

Le Schistocerca Peregrina *Olivier est nettement sensible au coccobacille d'Hérelle, à tous les stades de son évolution*, mais, comme la contamination résulte presque uniquement de l'acripiophagie, les épizooties provoquées donnent des résultats

d'autant plus nets que les malades sont plus aisément dévorés par leurs voisins.

Les facteurs qui tendent à rendre les infestations plus efficaces sont tous ceux qui augmentent la densité des bandes de criquets et favorisent par conséquent l'acridiophagie.

Le moment le plus favorable pour les pulvérisations est la fin du troisième stade. Les criquets ne sont pas encore réunis en colonnes; ils forment des taches denses compactes qui se déplacent très peu. Ils sont si rapprochés les uns des autres que la souillure des pâtures est certaine et que les malades sont dévorés fatalement, dès qu'ils sont trop faibles pour se défendre.

Dès le quatrième stade, la propagation de l'infection est beaucoup moins certaine. Les pulvérisations n'ont plus la même efficacité. La densité des colonnes est moindre; l'espace parcouru chaque jour devient de plus en plus considérable; les cadavres sont disséminés sur une grande surface; *les malades forment derrière le gros de la colonne des échelons de retardataires qui meurent éloignés des autres et sont ainsi perdus pour la contagion.* A mesure que l'on approche du moment de la dernière mue, *les colonnes de criquets sont ainsi soumises à des règles sanitaires de plus en plus sévères qui assurent l'élimination automatique des porteurs de germes.* Les dernières périodes de la vie larvaire ne sont donc pas favorables à l'application de la méthode biologique *surtout en terrain découvert.*

Les conditions d'application du procédé d'Hérelle réclament une précision si difficile à obtenir qu'on ne peut jusqu'à nouvel ordre le considérer comme pouvant suffire, à lui seul, à la solution intégrale du rude problème de la lutte antiacridienne. Mais, par contre, on ne peut contester que son efficacité, lorsqu'elle est obtenue, ne le rende pas nettement supérieur à toutes les autres méthodes et surtout beaucoup plus économique. Sans songer à renoncer à aucun des moyens de défense employés jusqu'ici, il convient de chercher à tirer de la méthode biologique le plus grand et le plus sûr parti.

Comme les éclosions ne sont jamais massives, mais qu'elles se font successivement dans la même région, à des dates qui varient avec l'orientation, la nature du sol, une seule équipe ne peut arriver à effectuer toutes les infestations, surtout si l'on

admet que ces infestations doivent être faites sur les taches, avant la formation des colonnes. Il est donc indispensable de repérer et de contaminer toutes les bandes de criquets avant le dixième jour. Pour cela, on doit prévoir une équipe par région, composée de la façon suivante :

1 Vétérinaire du Service zootechnique,
3 Infestateurs européens montés,
3 Chameliers.

Des stocks de bouillon seraient constitués dans chaque centre dès l'arrivée des vols et le matériel virulent serait préparé à l'avance par le Laboratoire de recherches de Casablanca.

Enfin, comme il a été observé que les vols d'invasion offraient une mortalité notable et contaminaient les taches de criquets, il convient d'infester les vols lors de leur arrivée dans le Sud, à Agadir, et plus loin même si la chose est possible.

Appliquée d'une manière large, la méthode biologique doit permettre de diminuer l'importance des vols de sauterelles de même que celle des taches de criquets, par conséquent faciliter dans une très large mesure la lutte par les procédés mécaniques et réduire les dépenses considérables qu'elle entraîne.

Avant de terminer ce rapport, je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à tous les officiers du Service des renseignements et à tous les fonctionnaires du Contrôle civil qui m'ont toujours prêté le plus aimable concours et ont grandement simplifié ma tâche.

ACTION DU BACILLE FLUORESCENT LIQUÉFIANT DE FLÜGGE SUR L'ASPARAGINE EN MILIEU CHIMIQUEMENT DÉFINI

VITESSE ET LIMITE DE L'ATTAQUE

(PREMIER MÉMOIRE)

par le Dr A. BLANCHETIÈRE

(Travail du Laboratoire d'Hygiène de Boulogne-sur-Mer.)

Parmi les bactéries liquéfiantes peuplant les eaux de surface qui alimentent les populations du Boulonnais les plus répandues sont certainement les bactéries du groupe du *Fluorescens liquefaciens* de Flügge.

Leur présence constante, rapprochée de celle non moins générale de quantités relativement importantes d'azote ammoniacal, m'a amené à me préoccuper de l'action de ces bactéries sur diverses substances azotées.

La question n'est pas nouvelle, mais la facilité avec laquelle ces microbes poussent sur des milieux chimiquement définis, en même temps que leur faible pouvoir pathogène en font des espèces de choix pour l'étude du chimisme bactérien.

— Emmerling et Reiser (1) ont étudié l'action du *Fluorescens liquefaciens* sur un certain nombre de substances protéiques (gélatine, fibrine du sang), ils concluent de leurs recherches que ce microorganisme n'est ni un agent de putréfaction, ni un producteur de ptomaïnes toxiques. Son action aurait surtout pour résultat la peptonification des albuminoïdes, puis une transformation *lente* en amines et ammoniaque. Des quantités appréciables de substance ne dépassent pas le stade

(1) EMMERLING et REISER, *Ber. d. deut. chem. Gesel.*, 1902, XXXV, 700.

peptonique, même après plusieurs mois. L'enzyme particulière sécrétée par le microbe serait, pour ces auteurs, une enzyme trypsique dont l'action se rapprocherait beaucoup de celle de la papayotine.

Emmerling et Reiser constatent également dans les cultures l'absence de phénols, d'indol, de scatol, de H^2S.

Les propriétés réductrices du *Fluorescens* étudié sont mises en évidence par la réduction du séléniate de soude.

Le pouvoir réducteur vis-à-vis des nitrates est bien connu.

— Le travail de Emmerling et Reiser forme la base de nos connaissances sur l'action chimique du *Fluorescens*. D'autres auteurs l'ont également étudiée, mais sans y rien ajouter de fondamental, sinon la notion de variabilité du pouvoir transformateur des microbes du groupe. C'est ainsi que Franzen et Löhmann (1) signalent un *Fluorescens* ne réduisant pas les nitrates, contrairement au microbe de Flügge.

Eisenberg (2) constate et provoque des différences portant sur l'aspect des colonies, la présence ou l'absence de fluorescence, la liquéfaction de la gélatine, l'alcalinisation plus ou moins forte du milieu, etc... En somme, rien qui n'ait été maintes fois constaté dans d'autres groupes bactériens.

Pribram et Pulay (3) ont vu se produire des variations de même ordre atteignant même les réactions biologiques du microorganisme.

— Au point de vue chimique, ce qu'il faut retenir de ces études, c'est que le bacille fluorescent liquéfiant est :

1° Avant tout, un organisme doué de propriétés hydrolytiques énergiques;

2° Un microbe possédant un pouvoir réducteur peut-être moins marqué que son pouvoir hydrolysant.

— Les expériences d'Emmerling et Reiser montrent que tout l'azote n'est pas attaqué avec une égale facilité, puisque

(1) HARTWIG FRANZEN et E. LOHMANN, Beiträge zur Biochemie der Microorganismen. I. — Quantitative Bestimmungen zur Salpetervergärung. *Zeit. f. phys., Ch.*, 1909, XLIII, 52.

(2) PHILIPP EISENBERG, Ueber Mutationen in der Gruppe des *B. fluorescens*, B. Pneumoniæ, bei Sarcina tetragena und bei B. typhi. *Centralbl. f. Bakt.* I ORIGIN., 1914, LXXIII, 466-486.

(3) ERNST PRIBRAM et ERWIN PULAY, Beiträge zur Systematik der Microorganismen. I. — Die Gruppe des Bacterium *fluorescens*. *Centralbl. f. Bakt.*, I ORIGIN., 1915, LXXVI, 321.

dans les milieux de culture, même après plusieurs mois, on trouve de l'azote engagé dans des combinaisons plus ou moins complexes depuis les protéoses jusqu'à l'ammoniaque.

Il m'a paru intéressant d'étudier le pouvoir transformateur du *Fluorescens* sur l'azote organique à ses divers états en partant de milieux simples et chimiquement définis. J'apporte ici les premiers résultats de mes recherches touchant son action sur l'asparagine.

I

Origine et caractérisation du microbe étudié.

Le bacille employé dans ces recherches a été isolé des eaux d'alimentation de la ville de Boulogne : isolement sur plaque de gélatine à 20-22°, repiquage sur gélose ordinaire où il est conservé depuis à la température du laboratoire.

Ce microorganisme présente les propriétés classiques du bacille de Flügge :

Il est morphologiquement identique, de caractères culturaux et de coloration semblables.

Il liquéfie rapidement la gélatine nutritive et se montre également protéolytique vis-à-vis du blanc d'œuf et du sérum coagulés.

Aux dépens de ces substances quaternaires, il produit de notables quantités d'ammoniaque.

Il réduit les nitrates, le séléniate de soude et les matières colorantes (tournesol, rouge neutre, etc... sont décolorés).

Il ne forme pas d'indol.

Son action sur les substances ternaires (hydrates de carbone et alcools polyatomiques) peut se résumer de la façon suivante : il ne provoque la fermentation que des hexoses simples à l'exclusion des polysaccharides et des alcools polyvalents, la recherche étant pratiquée sur bouillon peptoné tournesolé additionné de 3 p. 100 de la substance ternaire et l'examen des tubes ayant été arrêté au 15e jour de la culture. Il ne coagule pas le lait, mais l'éclaircit.

Il produit une matière colorante jaune vert fluorescente, le maximum de la production de pigment étant vers 25°. A 37°

on n'observe pas de pigment ou seulement, à la longue, une coloration jaunâtre. Après trois mois à la température du laboratoire, la matière colorante verte vire à l'orangé, puis devient peu à peu franchement rouge. Après plus d'un an cette teinte rouge se maintient. Les acides font disparaître la pigmentation verte qui est au contraire intensifiée par l'action des alcalis.

II

Milieu de culture.

Dans un but de simplification facile à comprendre, la seule matière fermentescible mise à la disposition du microbe a été l'asparagine.

Le milieu avait la composition suivante :

Chlorure de sodium	5 gr.
Phosphate disodique cristallisé	1 gr.
Phosphate bipotassique cristallisé	1 gr.
Asparagine pure (1)	3 gr.
Eau distillée q. s. pour 900 c.c.	

le liquide, réparti par 450 cent. cubes dans des ballons de 1 litre bouchés à l'ouate, fut stérilisé 15 minutes à 110-112°. Pour l'analyse on le transvasait dans une fiole jaugée de 500 cent. cubes et on faisait le plein avec les eaux de lavage.

Il est classiquement admis que l'asparagine n'est qu'assez lentement décomposée par l'eau (2). Récemment F. Ehrlich et Lange (3) ont confirmé ces données, l'hydrolyse serait proportionnelle au temps et l'azote amidé seul touché.

Néanmoins, comme les conditions expérimentales peuvent faire varier dans de larges proportions le coefficient d'hydro-

(1) L'asparagine employée a donné à l'analyse les résultats suivants :

(*a*) 1 gr. 0321 ont perdu à 105° 0 gr. 1253. La substance renfermait donc 12,14 p. 100 d'humidité. Calculé pour asparagine : 12 p. 100;

b) 0 gr. 7478 d'asparagine anhydre, traitée au Kjeldahl, a fourni une quantité d'ammoniaque qui a saturé 11 c. c.45 de SO^4H^2 de titre $\frac{N}{2} \times 0,9765$, d'où 20,93 p. 100 d'azote au lieu de 21.21 p. 100 calculés.

L'asparagine employée doit donc être considérée comme pure.

(2) *Dict.* de Wurtz, 2e suppl., I, 379.

(3) F. Ehrlich et Lange. — *Biochem. Zeits.*, 1913; LIV, 256-276.

lyse, j'ai tenu à m'assurer, dans chaque série d'expériences, jusqu'à quel point l'asparagine était touchée par la stérilisation.

Pour cela, après l'opération, l'azote ammoniacal et l'azote total ont été dosés sur le contenu de l'un des ballons, le premier par la méthode de Folin (déplacement par la magnésie, entraînement par un violent courant d'air et absorption dans un excès d'acide sulfurique titré), le second par la méthode de Kjeldahl.

Dans les conditions de l'expérience, je me suis assuré que la magnésie n'attaque pas sensiblement l'asparagine, en opérant avec 50 cent. cubes de liquide. *Avant stérilisation*, la quantité d'ammoniaque mise en liberté (suffisante cependant pour agir sur le Nessler) était insuffisante pour saturer un demi-dixième de centimètre cube d'acide N/2.

50 cent. cubes de liquide, *après stérilisation*, ont fourni une quantité d'ammoniaque qui a saturé 0 c. c. 14 (mesurés avec une pipette graduée en 1/100 de cent. cube) d'acide $\frac{N}{2} \times 0,9765$. D'où NH^3 par litre : 0 gr. 2330.

L'ammoniaque totale dosée sur 50 cent. cubes du même milieu traités au Kjeldahl, saturait 6 c.c. 73 du même acide. Cette ammoniaque totale par litre était donc de : 1 gr. 1172, correspondant à 4 gr. 9287 d'asparagine au lieu de 5 grammes.

Le proportion d'azote ayant subi l'hydrolyse dans ce cas était donc :

4,17 p. 100 de l'azote amidé,
2,09 p. 100 de l'azote total.

Dans d'autres séries d'expériences les chiffres trouvés ont été de même ordre; on les trouvera dans les tableaux en tête de chacun d'eux

III

Marche de l'hydrolyse bactérienne.

Bien que poussant facilement à 37°, le bacille fluorescent liquéfiant ne paraît jouir pleinement de ses fonctions biochimiques qu'aux environs de 20-25°, puisque à cette température sa fonction chromogène est maxima. Il y a donc lieu d'étudier

tout d'abord son action sur l'asparagine à cette température.

1° *Action sur l'asparagine à* 20-22°. — Les ballons ont été ensemencés au moyen d'une culture sur gélose âgée de quatre jours. Chacun d'eux a reçu une öse de culture. Au bout de temps variables, l'azote ammoniacal et l'azote total étaient dosés, le premier par la méthode de Folin (l'ammoniaque étant déplacée par la magnésie), le second par la méthode classique de Kjeldahl suivie de distillation dans l'appareil de Schlœsing-Aubin. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau suivant :

Tableau I (1).

NOMBRE DE JOURS de culture	AZOTE AMMONIACAL en NH^3	AZOTE TOTAL en NH^2	AZOTE AMIDÉ hydrolysé p. 100	AZOTE TOTAL hydrolysé p. 100
0	23,3	1117,2	4,17	2,09
1	83,0	1112,2	14,85	7,5
2	254,6	1113,9	45,80	22,8
3	343,6	1118,8	61,6	30,8
4	595,9	1113,9	107,0	53,5
5	595,9	1112,2	»	53,5
6	604,2	1112,2	»	54,6
7	»	»	»	»
14	700,5	1117,2	»	63,5
21	655,7	1112,2	»	59,1
28	785,2	1118,8	»	70,5
35	959,5	1118,8	»	86,0
42	1020,9	1117,2	»	92,0
49	929,6	1082,3	»	86,0

Le diagramme ci-contre montre, mieux encore que les chiffres, la marche de la fermentation.

On peut distinguer trois phases :

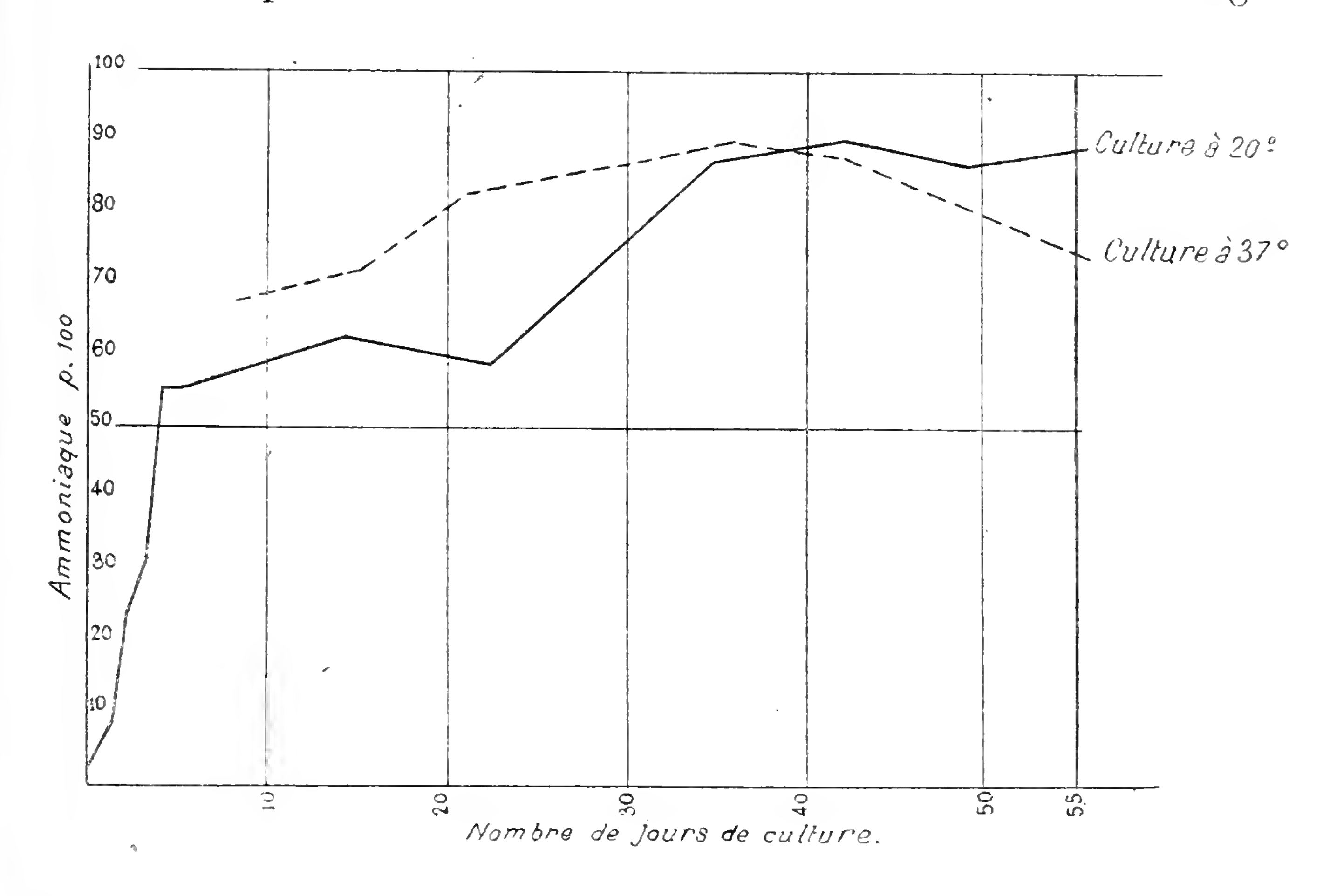
La première, qui dura moins de 4 jours, voit se transformer, à l'état ammoniacal, 50 p. 100 de l'azote total de l'asparagine;

(1) Dans ce premier tableau, j'ai tenu à indiquer les chiffres exacts d'azote total trouvés dans chaque opération pour montrer l'ordre des erreurs expérimentales. Dans les tableaux suivants, j'indiquerai le chiffre moyen afin de simplifier les résultats, sauf, à partir du moment où les chiffres, s'écartant notablement de la moyenne, indiqueront une perte d'azote.

c'est, sans aucun doute, l'azote amidé qui est transformé en azote d'un sel ammoniacal.

La preuve directe peut d'ailleurs en être fournie de la façon suivante :

Lorsque l'analyse du milieu démontre que l'azote de l'ammoniaque dépasse un peu 50 p. 100 de l'azote total (tableau I, 5e et 6e jours), déplacer NH^3 par la magnésie et l'entraîner par un violent courant d'air comme dans le dosage



par la méthode de Folin. Lorsque l'entraînement est complet, ce dont on s'assure en faisant barbotter l'air dans du réactif de Nessler, filtrer, acidifier, et faire bouillir pendant quelques heures pour hydrolyser l'asparagine qui peut rester, titrer l'ammoniaque qui peut ainsi avoir été formée.

On se rendra compte en agissant ainsi, même sur un demi-litre du milieu de culture, qu'on ne retrouve que des traces d'ammoniaque.

C'est donc bien la fonction amide qui a subi l'hydrolyse.

— La seconde phase, beaucoup plus lente, voit se continuer la formation d'azote ammoniacal et, à un certain moment, la quantité d'ammoniaque existant dans le milieu dépasse 90 p. 100 de celle qui peut théoriquement se former aux dépens de l'asparagine employée.

— Dans une troisième phase, il paraît y avoir disparition d'une partie de l'ammoniaque. Cette disparition de l'ammoniaque coïncidant avec une disparition d'azote total, il faut admettre qu'une partie de l'azote ammoniacal repasse à l'état de composés plus complexes et qu'une partie disparaît probablement à l'état d'azote. D'après les chiffres obtenus, sur 90 milligrammes environ d'ammoniaque disparus, 35 environ disparaîtraient à l'état d'azote; le reste ayant rétrogradé à un état indéterminé.

Nous verrons plus tard, en étudiant les produits d'attaque, dans quel sens doivent être dirigées des recherches ultérieures.

2° *Action sur l'asparagine à 37°. Influence de la température.* — J'ai dit plus haut les raisons qui m'ont porté à étudier d'abord l'hydrolyse à basse température.

Le *Fluorescens* poussant également bien à 37°, mais sans produire son pigment caractéristique, il était intéressant de voir si ses propriétés biochimiques vis-à-vis de l'asparagine subissaient une modification parallèle.

Une nouvelle série d'expériences fut donc entreprise en opérant dans des conditions identiques aux précédentes, à la température près. Le milieu contenait 0 gr. 8960 d'azote total par litre exprimé en NH^3, ce qui correspond à 3 gr. 9529 d'asparagine cristallisée.

Les résultats en sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau II.

NOMBRE DE JOURS de fermentation	AZOTE AMMONIACAL en NH^3, milligr. par litre	AZOTE TOTAL en NH^3, milligr. par litre	AZOTE TOTAL hydrolysé p. 100
8	601	896	67,3
15	638	896	71,2
22	732	896	81,9
29	749	896	83,7
36	804	896	89,9
43	747	880	84,6
50	710	880	80,7
57	664	847	74,5

L'une des courbes du diagramme représente la marche de l'hydrolyse dans ce cas :

Les trois phases déjà signalées dans la première série d'expériences se retrouvent nettement ici :

— En moins de huit jours, l'azote amidé a été totalement hydrolysé.

— L'attaque de l'azote aminé se produit ensuite lentement pour atteindre à un moment donné une limite voisine de 90 p. 100.

— Enfin la troisième phase paraît plus marquée encore que dans le cas précédent; une partie de l'azote ammoniacal disparaît ainsi qu'une fraction relativement importante de l'azote total.

3° *Influence des substances ternaires.* — J'ai signalé plus haut, à propos de l'idendification du microbe étudié, que le bouillon tournesolé et additionné de 3 p. 100 de substances ternaires vire au rouge lorsque cette substance ternaire est un sucre en C^6 (expériences faites avec glucose, lévulose, galactose) et, qu'au contraire, le tournesol sensible vire au bleu lorsque la substance ternaire est un alcool polyvalent (glycérine, dulcite, mannite) ou un produit de condensation des hexoses (maltose, saccharose, lactose). Cela ne veut évidemment pas dire que ces dernières substances ne fermentent point, mais que la production d'acides à leurs dépens est inférieure à la production de l'ammoniaque aux dépens de la substance azotée.

Il était intéressant de voir comment se comporte le *Fluorescens* en présence d'asparagine et de substances ternaires.

Pour cela j'ai fait une première série d'essais, pour ainsi dire qualitatifs, dans lesquels, en face d'une quantité constante d'asparagine, j'ai placé des quantités croissantes de substances ternaires fermentescibles.

Dans des tubes, j'ai placé uniformément 10 cent. cubes du milieu de culture précédemment indiqué, renfermant 0,5 p. 100 d'asparagine cristallisée; ce milieu était amené avec de la soude à la neutralité absolue vis-à-vis du tournesol, additionné de tournesol sensible, puis de quantités variables et connues de substances ternaires. Les tubes, ensemencés avec une culture de quatre jours sur gélose, étaient placés à l'étuve

et suivis pendant quinze jours. Les résultats ont été les suivants :

Culture à 20-22°. — A aucun moment les alcools polyvalents ni les polysaccharides n'ont fermenté, c'est-à-dire n'ont fait virer au rouge le tournesol et cela quelle que soit la teneur en substance ternaire du milieu, celle-ci ayant varié de 0,5 p. 100 à 5 p. 100. Le tournesol a toujours franchement viré au bleu, même d'une façon précoce en débutant par la surface du liquide.

Les sucres en C^6 étudiés (glucose, lévulose, galactose) ont tous acidifié après quatre ou cinq jours et cela quelle que soit la teneur en sucre dans les limites de 0,5 à 5 p. 100.

Mais avec les cultures plus anciennes, il y a lieu de faire une distinction : les milieux glucosés sont tous restés franchement acides.

Il n'en est pas de même avec les milieux lévulosés et galactosés : Seuls les tubes renfermant 4 à 5 p. 100 d'hydrate de carbone sont restés acides, les tubes à 2 et 3 p. 100 sont revenus à la neutralité ou même à une légère alcalinité. Les tubes renfermant 0,5 et 1 p. 100 de sucre sont franchement alcalins.

Dans presque tous ces tubes, la matière colorante du tournesol a disparu par réduction et, tardivement, la pigmentation et la fluorescence du microbe sont apparus.

Culture à 37°. — Les résultats sont beaucoup plus simples : comme sur les bouillons sucrés, seuls les sucres en C^6 ont permis l'acidification du milieu, à l'exclusion des alcools polyvalents et des polysaccharides. Ces résultats se sont maintenus constants jusqu'à la fin de l'expérience, quelle que soit la teneur en substance ternaire dans les limites indiquées de 0,5 à 5 p. 100.

Le *Fluorescens liquefaciens* paraît jouir de propriétés réductrices moins marquées à 37° qu'à 20-22°, car ici, si la teinte primitive a un peu baissé, tous les tubes sont restés colorés jusqu'à la fin par le tournesol.

Il était intéressant d'étudier quantitativement le phénomène en s'adressant à un milieu renfermant un des sucres attaquables par le microbe étudié.

Je me suis adressé au glucose par raison d'économie, car

l'étude de la fermentation en présence de lévulose et de galactose se serait peut-être montrée plus féconde en enseignements.

Culture à 37°. — Le microbe a été ensemencé sur le milieu suivant :

NaCl pur	5 grammes.
PO^4HNa^2 cristalisé	1 gramme.
PO^4HK^2.	1 gramme.
Asparagine	5 grammes.
Glucose pure	3 grammes.
Eau distillée, q. s. pour 1.000 grammes.	

stérilisé à 110-112° pendant 40 minutes sans alcalinisation préalable. Le milieu est neutre au tournesol après stérilisation.

L'analyse du milieu stérilisé a fourni les résultats suivants :

Azote ammoniacal (en NH^3 pour 1.000 c.c.). . .	0 gr. 0320
Azote total (en NH^3 pour 1.000 c.c.).	1 gr. 0973
Glucose (pour 1.000 c.c).	29 gr. 0880

Le *Fluorescens* pousse assez mal dans ce milieu et en aucun cas la culture n'est abondante; un trouble qui se dépose au bout de quelques jours, c'est tout ce qu'on obtient.

Les résultats analytiques sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau III.

NOMBRE DE JOURS de culture	AZOTE AMMONIACAL en NH^3, milligr. par litre	AZOTE TOTAL en NH^3, milligr. par litre	AZOTE AMMONIACAL fourni p. 100
0	32,0	1097,3	2,92
1	32,0	1097,3	2,92
2	58,1	1097,3	5,29
3	61,4	1097,3	5,59
4	152,7	1097,3	13,90
5	199,2	1097,3	18,25
7	146,1	1097,3	13,30
8	320,4	1097,3	29,30
15	532,9	1097,3	48,6
21	526,2	1097,3	47,9
28	526,2	1097,3	47,9
35	503,0	1097,3	45,8
42	473,1	1097,3	43,1

L'attaque de l'asparagine est donc ici nettement différente de ce qu'elle est en l'absence de sucre ; l'atome d'azote amidé est attaqué et transformé en ammoniaque, on peut dire totalement, mais l'atome d'azote de l'acide aspartique est entièrement respecté.

La preuve directe peut en être fournie en opérant comme il a déjà été dit plus haut pour démontrer que la fonction amide est la première touchée par l'hydrolyse ainsi qu'on pouvait s'y attendre *a priori*.

Comme précédemment, nous trouvons une phase de rétrogradation ; par contre, à aucun moment, il n'a été observé de disparition d'azote.

Culture à 20°. — La même expérience a été renouvelée à 20°, avec le même milieu que dans le cas précédent, les dosages après stérilisation ayant fourni les chiffres suivants :

Azote ammoniacal (en NH^3 p. 1.000 cent. cubes) . . 0 gr. 0299
Azote total (en NH^3 p. 1.000 cent. cubes) . . . . . . 1 gr. 1221
Glucose (p. 1.000 cent. cubes) . . . . 27 gr. 264

Les cultures ont été nettement plus abondantes que dans la précédente série, mais il n'y a pas eu production de pigment, contrairement à ce qui se produit dans la culture à 20° sans glucose. Les résultats ont été les suivants :

Tableau IV.

NOMBRE DE JOURS de culture	AZOTE AMMONIACAL en NH^3, milligr. par litre	AZOTE TOTAL en NH^3, milligr. par litre	AZOTE AMMONIACAL fourni p. 100
0	29,9	1122,1	2,7
6	260,6	1122,1	23,4
12	307,1	1122,1	27,6
18	423,3	1122,1	38,0
39	469,8	1122,1	41,7
48	488,0	1122,1	43,9
81	488,0	1122,1	43,9

Dans ce cas on voit d'une part qu'un seul atome d'azote a été libéré de l'asparagine, exactement comme cela se passe à 37° en face du glucose, mais la vitesse de l'attaque est sensiblement moindre et la limite d'attaque reste également infé-

rieure, 44 p. 100 au lieu de 49 p. 100; enfin, il n'a pas été observé de phase de rétrogradation de l'azote.

— Des deux séries d'expériences précédentes, faites en présence du glucose, on peut, par comparaison avec ce qui s'est passé dans les mêmes conditions en l'absence d'hexose, faire les deux hypothèses suivantes :

A. — L'attaque imparfaite de l'asparagine en présence du sucre provient des mauvaises conditions de développement imposées au microbe par suite de l'acidification du milieu.

B. — Le microbe n'attaque pas la molécule aspartique parce que, d'une part, l'hydrolyse d'un seul atome d'azote suffit à pourvoir à sa nutrition azotée, d'autre part, l'attaque du sucre fournit à ses besoins énergétiques, ainsi qu'aux nécessités de sa nutrition. En d'autres termes, en l'absence de glucose, le *Fluorescens* n'attaque la molécule aspartique que pour produire l'énergie nécessaire à sa croissance et faire face aux besoins de la synthèse de son protoplasma.

Pour examiner laquelle de ces deux hypothèses est la vraie, deux séries de recherches ont été instituées.

Culture en présence de glucose et de carbonate de chaux. — Dans cette série, l'acide formé aux dépens du sucre est saturé au fur et à mesure de sa formation par le carbonate de chaux, mis en excès; de plus, la seule source d'azote est l'asparagine. Voyons comment se comportera, dans ce cas, cette dernière substance. Le milieu de culture employé est identique au précédent, on a seulement ajouté 2 grammes de CO^3Ca par ballon de culture à 20° ; belle production de pigment.

Tableau V.

NOMBRE DE JOURS de culture	AZOTE AMMONIACAL en NH^3, milligr. par litre	AZOTE TOTAL en NH^3, milligr. par litre	AZOTE AMMONIACAL formé p. 100
0	23,2	1122,1	2,1
9	603,8	1122,1	54,2
15	715,5	1122,1	64,2
21	830,0	1122,1	74,8
42	830,0	1122,1	74,8
51	923,0	1122,1	83,0
84	967,8	1122,1	87,0

Ici la limite d'attaque est sensiblement la même que dans une opération sans glucose ni carbonate, la vitesse est notablement diminuée. Il n'a pas été en outre observé de phase négative, mais cela tient peut-être uniquement à ce que l'expérience n'a pas été suffisamment prolongée, bien qu'elle l'ait été moitié plus que dans les expériences sans glucose.

On conclut de ces constatations que le glucose ne s'oppose pas à l'attaque de l'atome d'azote de l'acide aspartique et que, par suite, si cet atome n'est pas touché dans les expériences sans carbonate, cela tient uniquement aux conditions défavorables dans lesquelles se développe le microbe ou dans lesquelles agit le ferment qu'il sécrète, conditions défavorables réalisées, probablement, par l'acidification du milieu.

Culture en présence du glucose et d'un sel ammoniacal. — Si l'attaque de la molécule aspartique a uniquement pour but une production d'énergie et une utilisation synthétique, on peut penser *a priori* qu'en fournissant au microbe une quantité suffisante d'azote ammoniacal, en présence d'une substance ternaire, il n'y aura plus aucune attaque de l'asparagine, puisque le microorganisme trouvera, d'autre part, tout ce qu'il lui faut pour végéter.

Le milieu suivant a été ensemencé dans les mêmes conditions que les précédents :

Chlorure de sodium pur	5 grammes.
Phosphate disodique cristallisé	1 gramme.
Phosphate dipotassique cristallisé . . .	1 gramme.
Asparagine.	5 grammes.
Chlorhydrate d'ammoniaque pur.	0 gr. 5
Glucose	3 grammes.
Eau distillée q. s. pour 1.000 cent. cubes.	

la culture à 20° se développe assez abondamment, il n'y a pas de production de pigment.

Les résultats des analyses sont consignés dans le tableau ci-contre.

Dans ce tableau, il est indispensable d'introduire deux colonnes nouvelles pour pouvoir évaluer l'azote ammoniacal réellement formé aux dépens de l'asparagine par différence entre l'azote ammoniacal titré et la quantité primitivement ajoutée.

Tableau VI.

NOMBRE de JOURS de culture	AZOTE AMMONIACAL COMPOSÉ DE :			AZOTE TOTAL COMPOSÉ DE :			AZOTE ASPARAGINIQUE hydrolysé p. 100
	TITRÉ	N AMMONIACAL ajouté	N AMMONIACAL hydrolysé	TITRÉ	NH^3 ajouté	NH^3 asparaginique	
0	154,4	122,9	31,5	1245,0	122,9	1122,1	3,8
8	277,2	122,9	154,3	1245,0	122,9	1122,1	13,9
14	330,3	122,9	207,4	1245,0	122,9	1122,1	18,6
20	499,7	122,9	376,8	1245,0	122.9	1122,1	33,8
40	537,8	122,9	414,8	1245,0	122,9	1122,1	37,2
49	599,3	122,9	476,4	1245,0	122,9	1122,1	42.8
82	660,7	122,9	537,8	1245,0	122,9	1122,1	48,2

Ici, comme dans les séries où l'acidification s'est faite librement, on voit se produire la mise en liberté d'un atome d azote de l'asparagine ; la vitesse de l'hydrolyse est diminuée, il n'a pas été constaté de phase de rétrogration, probablement parce que l'expérience n'a pas été poussée assez loin. En résumé, la présence d'un sel ammoniacal ne paraît avoir influencé en rien la fermentation.

*
* *

DISCUSSION DES RÉSULTATS

Le *Bacillus fluorescens liquefaciens* étudié se développe parfaitement dans un milieu où l'asparagine représente la seule source de carbone et d'azote.

Le bacille attaque l'asparagine en deux phases : dans la première, un atome d'azote est libéré rapidement, la mise en liberté du second est beaucoup plus longue; j'ai montré plus haut (chapitre III, paragr. 1°) que le premier atome libéré est l'atome d'azote amidé, ainsi qu'on pouvait s'y attendre *a priori* par suite de la labilité de la fonction amide.

Phase d'hydrolyse de l'atome d'azote amidé. — Elle est en tout semblable à l'hydrolyse de l'urée, que le *Fluorescens*

transforme en carbonate d'ammoniaque, ainsi que l'ont déjà signalé Emmerling et Reiser (*loc. cit.*).

$$CO\begin{cases}NH^2\\NH^2\end{cases} + 2H^2O = CO\begin{cases}ONH^4\\ONH^4\end{cases}$$

$$\begin{array}{l}CO - NH^2\\ \vert\\ CH^2\\ \vert\\ CHNH^2\\ \vert\\ COOH\end{array} + H^2O = \begin{array}{l}CO.ONH^4\\ \vert\\ CH^2\\ \vert\\ CHNH^2\\ \vert\\ COOH\end{array}$$

Il existe donc, à côté du ferment trypsique, signalé par les précédents auteurs, une uréase capable d'hydrolyser les amides.

Les corps microbiens centrifugés et employés sous toluène libèrent en effet de l'ammoniaque aux dépens du groupement amidé de l'asparagine. Dans ces conditions l'action est infiniment moins énergique qu'avec les bacilles vivants.

Il est assez délicat d'interpréter les résultats obtenus en ce qui concerne les conditions d'action de ce ferment. Cette action est évidemment rapide en milieu alcalin. Par contre, s'il agit en milieu acide, son action est certainement inhibée jusqu'à un certain point par ceux-ci, puisque au bout de 40 à 50 jours la mise en liberté de l'azote amidé est à peine totale, alors qu'elle l'est en moins de six jours lorsque le milieu est alcalin.

Or on peut prétendre que le ferment n'a rien à voir dans l'hydrolyse en milieu acide, que celle-ci est précisément due à un processus chimique, qu'elle est réalisée par l'acide formé, comme elle peut l'être par l'acide chlorhydrique, par exemple. De fait, l'hydrolyse en milieu acide, acide formé par fermentation en présence d'un sucre fermentescible, paraît se produire plus rapidement à 37° qu'à 20-22°; elle est en effet de 48 p. 100 de l'azote amidé au 15e jour à 37° (tableau III), alors qu'elle n'atteint que 44 p. 100 au 81e jour à 20-22° (tableau IV). Cette influence de la température paraît bien concorder avec une hydrolyse chimique.

Mais il a été trouvé (1) que l'hydrolyse chimique de l'aspa-

(1) *Dictionnaire* de Wurtz. 2e suppl., I, p. 379.

ragine par les acides est proportionnelle au temps, donnée confirmée récemment par F. Ehrlich et Lange (1).

Si donc l'acidité est constante, l'hydrolyse peut être représentée par une droite en portant par exemple les temps sur l'axe des x et les taux d'hydrolyse sur l'axe des y.

Si l'acidité augmente, l'hydrolyse sera à chaque instant fonction de cette acidité et sa variation se fera suivant une fonction logarithmique, le taux d'hydrolyse tendant vers une asymptote parallèle à l'axe Oy.

Si au contraire l'hydrolyse est à chaque instant proportionnelle à la quantité d'asparagine restant inaltérée, la variation se fera suivant une fonction logarithmique qu'on peut représenter par une courbe tendant vers une asymptote parallèle à l'axe Ox et l'hydrolyse ne saurait être alors proportionnelle au temps, ce qui serait contraire aux résultats trouvés par les auteurs cités ci-dessus.

Donc, en cas d'hydrolyse chimique, étant donné que le milieu de culture s'acidifie, la vitesse d'hydrolyse doit croître du commencement à la fin de l'expérience.

Or, si l'on veut bien se reporter au tableau IV indiquant la marche de l'hydrolyse à 20°, on verra que, dans la première semaine, 50 p. 100 de l'azote amidé sont passés à l'état ammoniacal à un moment où l'acidité du milieu est minimum ; que, dans les quarante jours suivants, l'hydrolyse n'atteint que 44 p. 100 de l'azote total, soit 88 p. 100 de l'azote amidé, alors que l'acidité a augmenté, et que par suite la vitesse de l'hydrolyse chimique devrait être maximum. Cette vitesse est donc inverse de ce qu'elle devrait être en cas d'hydrolyse par l'acide produit; par suite il y a lieu d'admettre qu'elle est d'origine biologique, qu'elle est donc due à un ferment agissant en milieu acide, comme en milieu alcalin, mais d'autant moins énergiquement que le milieu est plus acide.

Phase d'hydrolyse de l'atome d'azote aspartique. — Dans cette phase, l'azote aminé de l'acide aspartique passe à l'état ammoniacal.

La mise en liberté de l'azote dans la molécule d'asparagine

(1) F. Ehrlich et Lange, *Biochem. Zeits.*, 1913, LIV, 257-276.

atteignant environ 90 p. 100 de l'azote total, c'est donc 80 p. 100 de l'azote aminé qui, à un moment donné, se retrouvent à l'état ammoniacal.

Berghaus (1), qui a étudié la vitesse de production de l'ammoniaque aux dépens des substances azotées, par un certain nombre de microbes, l'a trouvée plus grande pour les bactéries pathogènes que pour les saprophytes.

Avec ces dernières, la quantité d'ammoniaque produite serait maxima en deux semaines. Dans les expériences précédentes, ce maximum n'a été atteint qu'après cinq ou six semaines, mais son existence est néanmoins très nette.

Pour Berghaus, les éléments azotés fournissent NH^3 d'autant plus aisément qu'ils se décomposent plus aisément par l'hypobromite. Cette affirmation paraît être trop générale; d'expériences préliminaires que j'ai exécutées pour orienter mes recherches, il résulterait que certaines substances azotées simples sont plus difficilement attaquées que certains protéides, et c'est dans cette voie, je crois, qu'on doit chercher l'explication du fait, signalé par Emmerling et Reiser, de la persistance de substances azotées complexes non attaquées dans les milieux de culture anciens, ces résidus paraissant enrichis en aminoïques élémentaires peu attaquables, au moins si on s'en tient à l'intensité des réactions colorées. Ce point fera d'ailleurs l'objet de recherches ultérieures.

A ce point de vue l'acide aspartique serait une substance intermédiaire facilement attaquable, quant à la limite atteinte par l'hydrolyse, moins facilement que certains autres acides aminés, si on s'en tient à la vitesse de la réaction.

— L'hydrolyse de cette fonction azotée paraît due à une enzyme spéciale agissant en milieu alcalin, mais dont l'action est inhibée par les acides.

Berghaus (*loc. cit.*) avait déjà mis en évidence l'existence d'enzymes semblables en observant la production d'ammoniaque avec les cultures tuées au toluène et à l'acétone.

— L'attaque de l'asparagine par le *Fluorescens* se fait donc sur le type même établi par Otto von Furth et Friedmann (2)

(1) Berghaus, Ueber die Ammoniakbildung bei einigen Bacterienarten. *Arch. f. Hyg.*, 1907, LXIV, 1-32.

(2) Otto von Furth et Friedmann, Ueber die Verbreitung asparaginspaltender Organfermente. *Biochem. Zeit.*, 1910, XXVI, 435-440.

pour l'attaque de ce corps par la levure ou certains organes animaux, en particulier la muqueuse intestinale, et par W. Brasch (1) pour l'attaque des acides aspartiques et glutamique par certaines bactéries, en particulier le *Putrificus*.

Phase de rétrogradation de l'azote. — Cette phase est nettement accusée, surtout dans les milieux non sucrés. Elle est plus importante à 37° qu'à 20° et cette différence apparaît surtout dans les milieux sucrés (différence entre les tableaux III et IV). Sur ces derniers (milieux sucrés à 20°) la phase négative n'a pas été observée, alors qu'elle est encore très nette sur ces mêmes milieux à 37°; pourtant la fermentation à 20° a été poussée très loin. Les résultats analytiques sont tels qu'il ne peut y avoir de doute sur l'importance des phénomènes de rétrogradation de l'azote.

D'ailleurs, des résultats de même ordre ont déjà été obtenus, d'une part par Emil Zak, d'autre part par S. Kostytschew et W. Brilliant.

Emil Zak (2) signale que dans les milieux de culture, les *protalbumoses* diminuent d'une manière continue, alors que les *deuteroalbumoses* diminuent d'abord, puis augmentent, cette augmentation étant accompagnée d'une diminution des corps précipitables par l'acide phosphotungstique. Or on sait que l'ammoniaque fait partie de ces derniers. Il a constaté également que les mêmes phénomènes se produisent dans les filtrats abandonnés sous toluène.

S. Kostytschew et W. Brilliant (3) ont obtenu des résultats analogues avec le suc de levure de Lebedew. Ce suc, qui contient des protéines et une endotryptase, subit à 34° une autolyse avancée laissant subsister, même après neuf jours, une petite quantité de protéine. Mais au processus d'hydrolyse peut succéder un processus de synthèse, à la condition que la

(1) W. Brasch, Ueber den bakteriellen Abbau primären Eiweisspaltprodukte. *Biochem. Zeit.*, 1909, XVIII, 380-390. Weitere Untersuchungen über den bacteriellen Abbau primären Eiweisspaltprodukte. *Biochem. Zeit.*, 1909, XXII, 442-443.

(2) Emil Zak, Zur Kenntnis der Wirkung des proteolytischen Fermentes von *B. pyocyaneus*. *Beitr. z. chem. Phys.*, 1907, X, 287-298, d'après *Bull. Inst. Past.*, 1908, VI, p. 376-377.

(3) S. Kostytschew et W. Brilliant, Die Synthese stickstoffhaltiger Stoffe im Macerationhefensaft, *Zeit. f. phys. Ch.*, 1914, XCI, 372-391.

dégradation protéique ait été suffisante et qu'il y ait une concentration en sucre élevée. A la fin de l'opération la quantité d'azote protéique peut surpasser de 16 p. 100 celle qui existait dans le sucre avant autolyse. La substance formée diffère par certains caractères de la substance primitive.

Ces travaux sont également à rapprocher de ceux de Bourquelot et de ses collaborateurs sur la réversibilité de l'action des enzymes, bien que ceux-ci ne visent guère que les ferments des hydrates de carbone et des glucosides.

Les expériences de Zak et de Kostytschew et Briliant, faites sur des composés de structure compliquée, méritent d'être reprises sur un milieu simple, comme celui employé dans mes expériences. Je me suis assuré en effet que la rétrogradation de l'azote n'aboutit pas, au moins sensiblement, à la formation de corps aussi complexes que les protéides ou même que les polypeptides précipitables par les réactifs généraux des albuminoïdes. J'ai eu tout au plus un louche très léger dans des milieux de culture, où 15 p. 100 de l'azote avaient rétrogradé, avec les réactifs suivants :

Acide nitrique,
Ferrocyanure acétique,
Acide trichloracétique,
Iodhydrargyrate acétique.

L'étude du problème de la rétrogradation paraît donc être, dans ce cas, particulièrement simple, c'est une question de matière première, et je n'hésiterai pas à l'aborder, dès que les circonstances me le permettront.

Influence des substances ternaires fermentescibles. — La présence de sucres fermentescibles a une influence retardatrice très nette sur l'attaque de l'asparagine en milieu maintenu neutre par le carbonate de chaux. Lorsqu'on laisse le milieu s'acidifier librement, l'hydrolyse de l'azote se borne même à l'atome amidé.

Ces résultats corroborent ceux obtenus par un grand nombre d'auteurs parmi lesquels je citerai :

Péré (1), qui constate l'action inhibitrice des hydrates de car-

(1) Péré, cité par Macé, in *Traité pratique de Bactériologie*, 6e éd., p. 178. Paris. Baillière, 1913.

bone sur l'attaque des substances azotées par le colibacille, action inhibitrice qu'il est facile de mettre en évidence par la perturbation de la fonction indologène en présence des substances ternaires fermentescibles.

S. Simitzki (1) constate lui aussi que la présence de sucres s'oppose à l'attaque de l'albumine; comme moi, il pense que cet arrêt est dû à la production d'acides.

Pour K. E. Bœhncke (2), au contraire, s'il est vrai que l'addition de 2 p. 100 de glucose aux milieux diminue la production d'ammoniaque par certains microbes (*B. fecalis alcaligenes*, *B. coli*), avec d'autres, au contraire, pareille addition provoquerait la formation prépondérante de produits alcalins. J'ai tenu à citer le travail de Bœhncke, car cet auteur range le B. pyocyanique dans cette dernière catégorie et car il semble ainsi y avoir une divergence entre nos deux séries de recherches, étant données les étroites analogies biochimiques existant entre le *Fluorescens liquefaciens* et le pyocyanique.

En résumé : 1° Le bacille fluorescent liquéfiant vit très bien sur un milieu ne renfermant que de l'asparagine comme source unique de carbone et d'azote. Ce milieu est particulièrement favorable à la production du pigment lorsque les autres conditions (température, alcalinité, présence de phosphates, etc.) nécessaires sont réalisées.

2° Sur ce milieu, l'hydrolyse des fonctions azotées (ou des groupements azotés) se produit en deux temps : hydrolyse de la fonction (ou du groupement) amidé très rapide, hydrolyse du groupement aspartique plus lente.

Au bout d'un temps suffisant, 90 p. 100 environ de l'azote total sont retrouvés à l'état ammoniacal.

3° En abandonnant les cultures pendant un temps suffisant, on voit qu'une partie de l'azote libéré à l'état ammoniacal subit un phénomène de rétrogradation qui ne va pas, ou seulement pour une très faible part, jusqu'à la production de substances protéiques.

(1) S. Simitzki, Beiträge zur Lehre der Einflusses der Kohlenhydrate auf die Eiweisfaülnis. *Zeit. f. phys. Ch.*, 1903, XXXIX, 99-125.

(2) K. E. Bœhncke, Die Beziehungen zwischen Zuckergehalt des Nährbodens und Stickstoffumsatz bei Bakterien. *Arch. f. Hyg.*, 1911, LXXIV, 81-109.

4° Les sucres fermentescibles ont une action retardatrice très nette sur les phénomènes précédents, si on maintient le milieu alcalin par addition de carbonate de calcium.

5° Si on laisse le milieu sucré s'acidifier librement, l'hydrolyse des groupements azotés est limitée au groupement amidé et cette hydrolyse subit un retard considérable.

6° La façon dont se comporte l'asparagine, seule ou en présence des sucres et des sels ammoniacaux, porte à penser que l'attaque de la molécule aspartique, lorsqu'elle est seule, n'est pas due à une nécessité du développement microbien (nécessité énergétique et de synthèse). Cette molécule paraît en effet attaquée aussi fortement en présence de sources d'énergie plus faciles à utiliser, lorsque les conditions chimiques nécessaires à l'action des ferments sont réalisées.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.



Fig. 1. — Catgut eucalyptolé après 10 jours. G[t] 20. Direction M'.

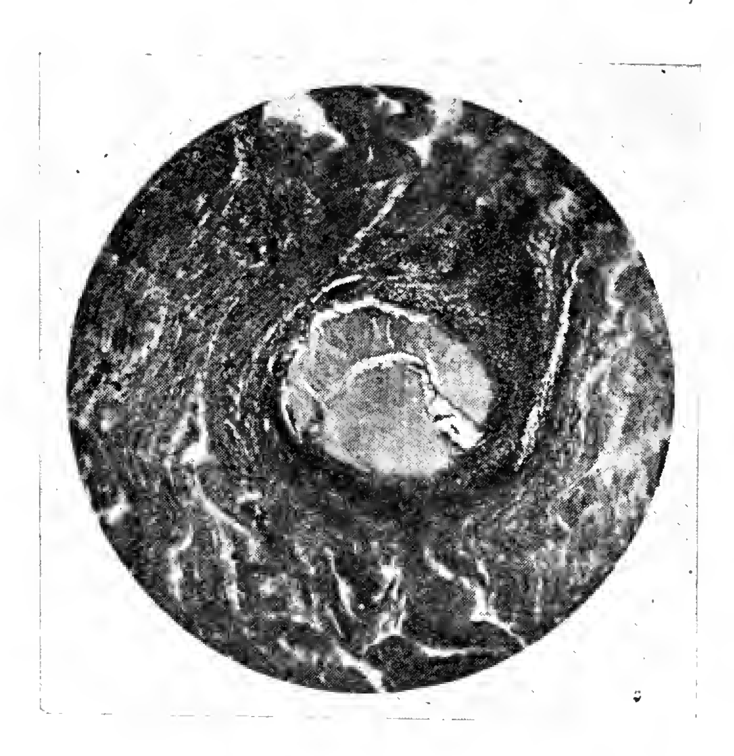


Fig. 2. — Catgut eucalyptolé après 19 jours. G[t] 20. Direction M'.



Fig. 3. — Catgut eucalyptolé après 31 jours. G[t] 20. Direction C'.

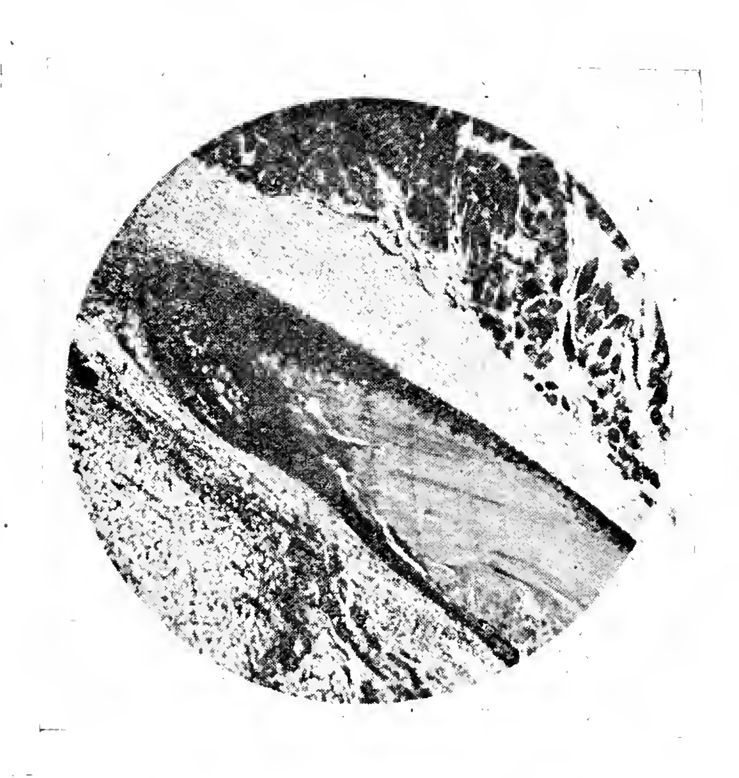


Fig. 4. — Catgut eucalyptolé après 48 jours. G[t] 20. Direction D'.

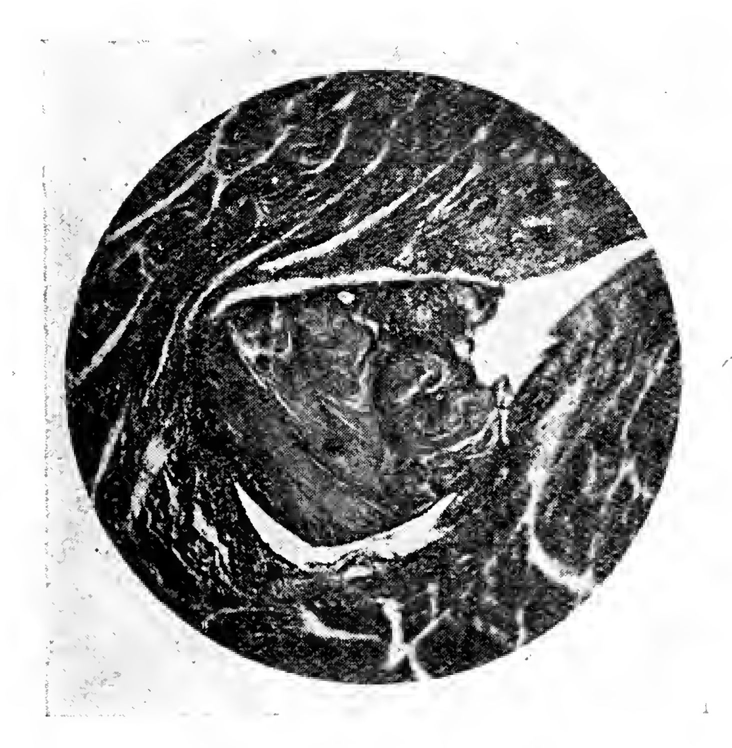


Fig. 5. — Catgut iodé B après 10 jours. G[t] 20. Direction A'.



Fig. 6. — Catgut iodé B après 19 jours. G[t] 20. Direction A'.

Pour les directions des coupes, voir la figure dans le texte.



Fig. 7. — Catgut iodé B après 31 jours. G^t 20. Direction D'.



Fig. 8. — Catgut iodé B après 31 jours. G^t 20. Direction B'.

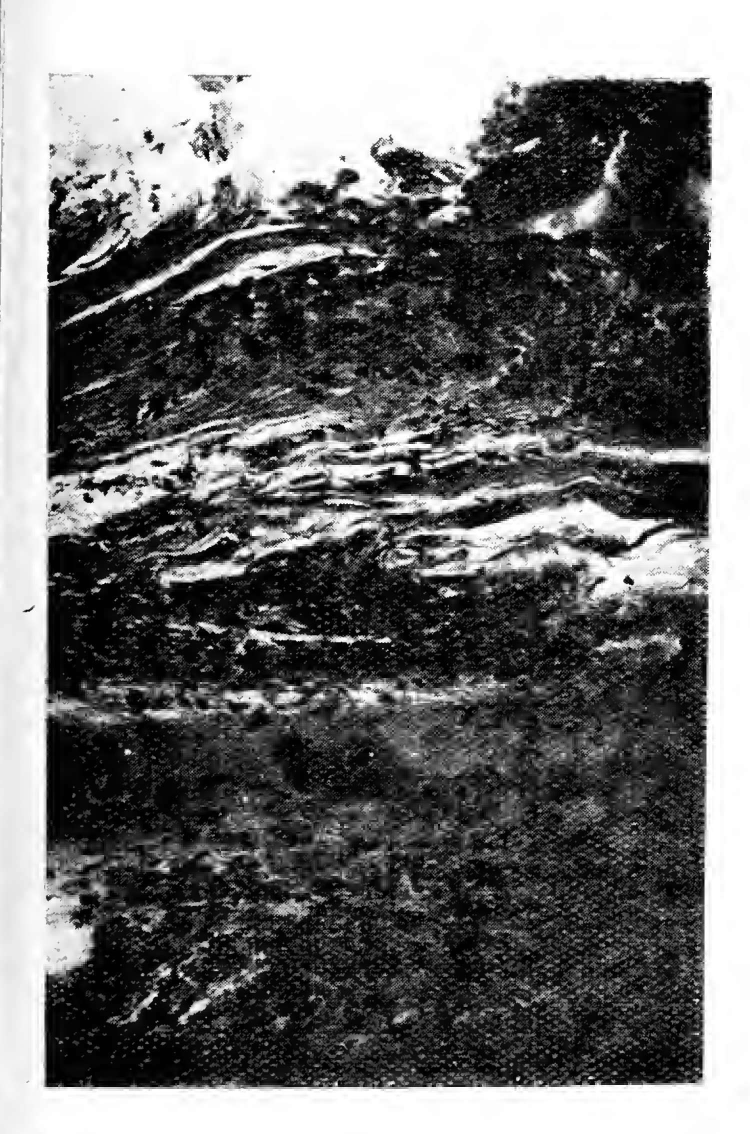


Fig. 9. — Catgut iodé B après 31 jours. G^t 150. Direction D'.



Fig. 10. — Catgut collargolé après 34 jours. G^t 40. Direction B.

Pour les directions des coupes, voir la figure dans le texte.



Fig. 11. — Catgut oxygéné après 34 jours. Gᵗ 20. Direction K.



Fig. 12. — Catgut formolé après 34 jours. Gᵗ 20. Direction D.



Fig. 13. — Catgut à l'oxycyanure de mercure après 34 jours. Gᵗ 20. Direction A.



Fig. 14. — Catgut chromé après 34 jours. Gᵗ 20. Direction H.



Fig. 15. — Catgut collargolé après 34 jours. Gᵗ 20. Direction B.



Fig. 16. — Catgut iodé B après 34 jours. Gᵗ 20. Direction M.

Pour les directions des coupes, voir 1 figure dans le texte.

Ouvrage reçu par les ANNALES :

Laboratory Manual
in
GENERAL MICROBIOLOGY

Prepared by the
Laboratory of Bacteriology, Hygiene and Pathology
Michigan Agricultural College.

FIRST EDITION

NEW-YORK : John Wiley & Sons, Inc.
LONDON : Chapman & Hall, Limited.
1916

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXXI. — 1917. Juillet. — N° 7.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE M. PASTEUR

PAR

E. DUCLAUX



PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : 18 francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : 20 francs.

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

SOMMAIRE DU N° 7

BULLETIN

DE LA

Société de Pathologie exotique

Siège de la Société : Institut Pasteur, Paris

Paraît 10 fois par an, 15 jours après chaque séance qui a lieu le 2e mercredi du mois, sauf en août et septembre.

Le volume de 1915, qui atteint 800 pages, avec figures dans le texte et planches hors texte, ne le cède en rien, malgré les circonstances, à ceux des années précédentes.

Prix de l'Abonnement :

France : 18 fr. — Union postale : 20 fr.

31e ANNÉE JUILLET 1917 N° 7

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

LE PARAGANGLIOME SURRÉNAL

par le Dr Albert PEYRON

Nous nous proposons de reprendre ici, en la complétant, l'étude des tumeurs du paraganglion surrénal, à laquelle nous avions consacré, en 1912, avec M. Alezais, un mémoire préliminaire. Nous avons pu, depuis lors, recueillir, chez le cheval, quelques nouveaux cas de tumeurs de la médullaire, dont la plupart proviennent des abattoirs de Vaugirard. D'autre part, M. le professeur Petit (d'Alfort), avec son obligeance coutumière, nous a remis une tumeur surrénale de mouton et de nombreux fragments d'une tumeur surrénale maligne de cheval. Cette dernière, qui s'était accompagnée de métastases multiples, a présenté, pour notre étude, un intérêt documentaire de premier ordre.

La micrographie des tumeurs du paraganglion surrénal est intéressante à tous les égards. Il s'agit d'une morphologie néoplasique nouvelle peu ou pas étudiée jusqu'ici ; une étude systématique préalable, basée sur une anatomo-pathologie précise, est évidemment nécessaire, ici comme dans toute la question du cancer, pour éclairer les investigations ultérieures. D'autre part, la pathologie générale des glandes endocrines, qui a vu son domaine s'étendre considérablement dans ces dernières années, hésite sur la plupart des multiples syndromes d'hyper-, d'hypo- ou même de parasécrétion qui lui ont été proposés, et

dont l'individualisation reste, en effet, douteuse en l'absence de documents histologiques précis. Elle peut attendre du développement de nos connaissances sur les tumeurs des divers épithéliums endocrines de nouvelles précisions en même temps que des hypothèses de travail.

La vascularisation de ces néoplasies, leurs modalités de sécrétion et d'excrétion, plus ou moins rapprochées de l'état normal, leurs variations quantitatives, la valeur fonctionnelle de leurs métastases, constituent autant d'éléments fondamentaux pour l'étude de leur physio-pathologie.

CHAPITRE PREMIER

LA RÉACTION CHROMAFFINE

ET L'HISTOIRE ANATOMIQUE DES PARAGANGLIONS

Nous ne présenterons pas ici un historique détaillé, mais simplement quelques éléments nécessaires à la liaison des données acquises comme à la compréhension de celles qui vont suivre.

Henle (1865), plongeant des capsules surrénales humaines dans des solutions de bichromate de potasse, avait noté que leur partie médullaire gardait une coloration brune, et il avait pu la rapporter aux éléments propres de cette substance. Cette réaction qui a reçu, dans la suite, les noms variables de chromophile (Stilling), chromaffine (Kohn), pheochrome (Poll) n'est plus considérée aujourd'hui comme rigoureusement spécifique au point de vue histologique; on sait qu'elle n'appartient pas exclusivement aux éléments cellulaires des paraganglions; mais elle n'en garde pas moins une valeur décisive pour différencier les cellules à adrénaline des cellules à cholestérine, ainsi que des cellules nerveuses en cours d'évolution.

C'est donc à Henle qu'il convient de rapporter la découverte d'une précieuse méthode d'investigation, qui allait bientôt permettre de soupçonner et de caractériser les formations analogues disséminées sur le territoire du système nerveux sympathique.

Eberth, peu après, retrouvait la réaction dans les surrénales des amphibiens, des reptiles et des oiseaux.

En 1872, S. Mayer réussit à la déceler — notion fondamentale — en dehors du tissu surrénal au niveau d'éléments cellulaires disséminés parmi les branches du sympathique abdominal des amphibiens et des reptiles. Dans la suite, Rabl (1891), et surtout Kose (1902) précisent la topographie et la cytologie des cellules chromaffines dans les ganglions sympathiques des oiseaux.

Enfin, chez les mammifères, Stilling (1892-1898), observant la chromophilie des éléments de la glande carotidienne, les assimilait le premier aux éléments de la médullaire surrénale. C'est donc à lui que revient le mérite d'avoir soupçonné, le premier, la nature glandulaire des corpuscules annexés au système nerveux sympathique.

Néanmoins, c'est à un autre histologiste, Kohn, qu'il faut rapporter l'honneur

d'avoir, par une série de longs travaux, définitivement établi, dans son extension actuelle, la notion morphologique des paraganglions, et de l'avoir surtout appuyée sur une base embryologique précise.

Kohn a observé la présence, tant dans les ganglions spinaux que dans le sympathique, d'éléments cellulaires de très faibles dimensions : les neurocytes. Ces neurocytes, qui dans le ganglion spinal engendrent les cellules ganglionnaires, se multiplient activement dans le sympathique pour constituer les sympathogonies. Ces derniers éléments, par leurs différenciations ultérieures, engendrent à la fois les cellules mères des ganglions sympathiques et celles des futures cellules chromaffines. Ces dernières demeurent disséminées au milieu des éléments nerveux, ou, au contraire, sortent des limites de l'ébauche nerveuse originelle pour demeurer à son voisinage. Ainsi se constituent les paraganglions qu'on peut observer chez les mammifères, sur tout le trajet du sympathique, entre le crâne et la région coccygienne, mais particulièrement denses et nombreux dans la région de l'aorte abdominale. L'un d'eux, à la suite de sa pénétration dans l'ébauche du cortex surrénal, est destiné à former la substance médullaire.

Il convient de noter ici le point de vue spécial auquel s'était placé primitivement Kohn, et qui l'avait conduit à une conception plutôt erronée. L'histologiste allemand, dont les recherches avaient eu pour point de départ l'existence, dans les ganglions sympathiques, d'éléments chromaffines isolés, de forme irrégulière ou étoilée, avait été porté à considérer le « chromaffine Gewebe » dans son ensemble, comme une émanation sympathique de type spécial, plutôt nerveux qu'épithélial (1).

Au contraire, sa nature épithélio-glandulaire, déjà entrevue par Stilling, devait résulter, comme on le verra plus loin, des recherches fondamentales de Grynfeltt, en particulier de la découverte par cet auteur de la granulation chromaffine. D'autre part, il semble bien que Kohn ait rangé, sans preuve suffisante, parmi les paraganglions des mammifères, la glandule tympanique et le glomus coccygien.

Nous ne croyons pas qu'une démonstration de la chromaffinité de la glandule tympanique ait jamais été apportée ; et en ce qui concerne le glomus coccygien, nous sommes en mesure d'affirmer que Kohn s'est trompé et que ce bourrelet artério-veineux n'a aucun lien génétique avec le sympathique.

Quoi qu'il en soit, la conception actuelle des paraganglions est celle d'un système de glandules endocrines, développé sur le territoire du système nerveux sympathique et dont l'activité fonctionnelle se manifeste par la sécrétion de l'adrénaline.

Chez les poissons, les paraganglions (corps suprarénaux des sélaciens) demeurent indépendants des corps interrénaux homologues du cortex surrénal.

Chez les batraciens, les reptiles et les oiseaux, les formations des deux séries se fusionnent pour constituer la capsule surrénale. Chez les mammifères, l'organisation de cette dernière devient particulièrement complexe et se traduit par une disposition spéciale du système vasculaire : le paraganglion surrénal est interposé sur le courant sanguin surrénal, en aval des travées endothéliales du cortex cholestérinogène ; son système veineux (capillaires sinusoïdaux et veine centrale musculaire) joue vis-à-vis de celui du cortex le rôle d'un drain collecteur ; il est donc permis de supposer, à la

(1) Kohn, Die Paraganglien. *Archiv für mikroskopische Anatomie*, 1903.

suite de Mulon, que la cellule adrénalinogène utilise peut-être pour son fonctionnement la sécrétion ou les déchets de la cellule à cholestérine.

Les autres paraganglions lombaires (en particulier l'organe de Zuckerkandl) qui ne contractent pas de connexions avec les cellules à cholestérine sont destinés à disparaître, dans les premiers mois qui suivent la naissance; par contre, au niveau du sympathique cervical, le paraganglion carotidien persiste chez l'adulte et garde une activité physiologique plus ou moins marquée suivant l'animal envisagé (recherches de Mulon sur le cheval). Ajoutons enfin le paraganglion cardiaque, qui se retrouve chez l'homme comme chez les autres mammifères, et qui se relie probablement au paraganglion carotidien par une série de nodules secondaires (1). Le caractère fonctionnel général qui unit ces diverses glandules disséminées dans le sympathique, et qui confère à leur système une individualité remarquable, est la sécrétion de l'adrénaline, douée d'une action sur le système sympathique de la fibre musculaire lisse. C'est en raison de ses propriétés réductrices puissantes, que l'adrénaline précipite en brun les solutions de sels chromiques. Il est intéressant de constater que cette précieuse réaction chromaffine, qui a éclairé toute l'étude morphologique des paraganglions, exprime en même temps une de leurs propriétés essentielles.

(1) Trinci, Le système chromaffine cardio-cervical chez quelques Sauriens. *Archivio italiano di Anatomia*, 1913.

CHAPITRE II

HISTORIQUE DE NOS RECHERCHES PERSONNELLES

En 1903, durant notre adjuvat d'anatomie à la Faculté de Médecine de Montpellier, notre attention fut attirée sur un organe nouveau que Zuckerkandl venait de découvrir dans le tissu cellulaire de la région cœliaque et dont il avait fait la description au XV[e] Congrès de l'Anatomische Gesellschaft, à Bonn, sous le nom de *Nebenorgan des Sympathicus* (1901).

Peu après, cet organe parasympathique de Zuckerkandl avait été l'objet d'une étude histologique de MM. Bonnamour et Pinatelle, faite au Laboratoire d'Histologie de Lyon, en 1902 (1). Les auteurs, après étude d'un matériel provenant d'autopsies (fœtus et nouveau-nés), y virent un organe spécial ne rappelant en rien ni le cortex ni la substance médullaire des surrénales, « *organe spécial, disaient-ils, dont la structure fine, les fonctions, et même l'anatomie comparée sont encore inconnues et demandent de nouvelles recherches* ».

En 1905-1906, durant notre séjour militaire à Marseille, M. le professeur Alezais, qui avait bien voulu nous ouvrir son laboratoire, nous engagea à étudier le développement de cet organe en corrélation avec celui des paraganglions dont la notion venait d'être développée par Kohn. Les recherches en collaboration effectuées sous sa direction nous permirent de constater la chromaffinité de l'organe qui avait été méconnue

(1) Bonnamour et Pinatelle, Note sur l'organe parasympathique de Zuckerkandl. *Bibliographie anatomique*, 1902.

par Bonnamour et Pinatelle et de préciser son embryologie topographique en particulier chez le chien (1).

L'erreur des histologistes lyonnais résultait évidemment du choix de leur matériel qui était particulièrement défavorable à la recherche de la réaction chromaffine.

Cette étude préliminaire avait pu nous convaincre que certains points de la morphologie des paraganglions, en particulier la délimitation exacte du groupe chez les mammifères, appelaient de nouvelles précisions; d'autre part, l'anatomo-pathologie générale des capsules surrénales devait également être reprise d'après la dualité de leur origine. C'est ainsi que nous fûmes amené successivement à apporter la notion et les caractères généraux des tumeurs des paraganglions (2), à constituer le groupe de paragangliomes carotidiens (3) à l'aide de tumeurs confondues jusqu'alors avec les sarcomes, les endopérithéliomes, ou les branchiomes; et celui des paragangliomes surrénaux qui fait l'objet de notre nouveau travail (4).

Notre mémoire préliminaire de 1912 résumait également le résultat de nos premières recherches sur les vacuoles, les enclaves et le cycle histo-physiologique des cellules chromaffines.

En allant ainsi de la morphologie normale à la morphologie néoplasique, nous avions soupçonné l'existence de tumeurs à dispositions neuro-embryonnaires, provenant des éléments générateurs des paraganglions (5); nous avons pu, dans la

(1) Alezais et Peyron, L'organe parasympathique de Zuckerkandl chez le jeune chien. Réunion biologique de Marseille, in *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1906.

Idem, Sur le développement des paraganglions lombaires. *Ibid.*, 1907.

(2) Alezais et Peyron, Un nouveau groupe de tumeurs épithéliales : les paragangliomes. Réunion biologique de Marseille, in *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1908.

(3) Alezais et Peyron, Histogénèse des paragangliomes carotidiens. *Association française pour l'étude du cancer* (avec 24 figures), 1911.

(4) Alezais et Peyron, Le paragangliome surrénal. *Association française pour l'étude du cancer* (avec 17 figures), 1912.

Idem, Sur la cytologie de la cellule chromaffine dans les paragangliomes surrénaux. Réunion biologique de Marseille, in *Comptes rendus de la Soc. de Biologie,* juillet 1910.

Idem, Les vacuoles et les enclaves de cellules chromaffines. *Ibid.*, mars 1911.

Idem, Sur une tendance évolutive fréquente dans les paragangliomes surrénaux. *Ibid.*, 25 avril 1911.

(5) Alezais et Peyron, Les tumeurs dites gliomateuses des capsules surrénales. Réunion biologique de Marseille, in *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1907.

suite, constituer ce groupe de sympathomes embryonnaires et parasympathomes, successivement pour le paraganglion surrénal (1) et pour le paraganglion carotidien (2).

Il reste, pour compléter la série, le groupe plus nombreux des cortico-surrénalomes; les documents histologiques qui s'y rapportent seront publiés ultérieurement.

Cette anatomo-pathologie des tumeurs surrénales était nettement favorable à la conception dualiste : nous avons pu l'appuyer, d'autre part, à l'aide de quelques cas rares mais probants de lésions localisées à l'une des deux substances (3).

En ce qui concerne la délimitation du groupe des paraganglions des mammifères, la détermination morphologique de la nature de la glande tympanique reste incertaine. Par contre, nous avons pu faire, au sujet de la glande coccygienne de Luschka, un ensemble d'observations, nettement contraire aux conclusions de Jakobsson et de Kohn sur le lien génétique de cet organe avec le sympathique. Le glomus coccygien représente un simple bourrelet artério-veineux, pulsatile, tendu entre l'artère et la veine sacrée moyenne; les tumeurs qui lui avaient été rapportées au titre de périthéliomes sont, en réalité, des neuro-épithéliomes, provenant des vestiges médullaires coccygiens (4).

(1) Alezais et Peyron, Les parasympathomes de la capsule surrénale et l'histogénèse des sympathomes embryonnaires. *Bulletin de l'Association française pour l'étude du cancer*, fascicule complémentaire de 1912 (avec 24 figures).

(2) Alezais et Peyron, Les parasympathomes carotidiens. *Bulletin de l'Association française pour l'étude du cancer* (mémoire en impression en avril 1914).

(3) Alezais et Peyron, Aplasie des paraganglions surrénaux et lombaires chez un anencéphale. Réunion biologique de Marseille, in *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, novembre 1909.

Pezet et Peyron, Lésion dégénérative localisée au cortex surrénal chez une aliénée. *Ibid.*, juillet 1910.

(4) Alezais et Peyron, Les tumeurs dites de la glande de Luschka et leur histogénèse aux dépens du vestige du segment caudal de la moelle épinière. Association française pour l'avancement des Sciences, Congrès de Nîmes, 1912, in *Bulletin de l'Association française pour l'étude du cancer*, fascicule complémentaire de 1912 (avec 29 figures).

CHAPITRE III

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LES TUMEURS SURRÉNALES

L'étude des néoplasies surrénales est particulièrement favorable pour mettre en évidence la valeur décisive des données embryologiques dans l'histogénèse des cancers et le problème de leur origine.

C'est à la confusion, si longtemps maintenue dans l'embryologie des surrénales, qu'on doit attribuer l'incertitude dont les travaux récents sur les tumeurs de ces organes portaient encore la trace.

Les auteurs les mieux avertis avaient reconnu cette difficulté :

« *Le développement de la capsule surrénale, disait Lecène* (1) *en 1904, n'est pas encore connu d'une façon définitive et l'ancienne opinion de Balfour qui admettait une origine distincte pour la substance corticale* (*mésodermique*) *et la substance médullaire* (*ectodermique*) *n'est plus admise par tous; aussi ne pouvons-nous en tirer aucune déduction pour la classification des tumeurs de cet organe.* »

Pilliet, guidé par l'idée théorique de l'origine vasculaire du sarcome, admettait que les tumeurs épithéliales se développaient plutôt aux dépens de la corticale et les sarcomes plutôt aux dépens de la médullaire qui est plus riche en vaisseaux (2).

(1) Lecène, Les tumeurs des capsules surrénales, in *Travaux de chirurgie anatomo-clinique*, de Hartmann, t. II, 1904.
(2) Pilliet, *Bulletin de la Société anatomique*, 1888-89-92.

Woolley (1) décrivit, sous le nom de mésothéliome, un cas intéressant de tumeur surrénale épithéliale qui lui paraissait présenter simultanément une prolifération conjonctive et il chercha à rattacher cette double tendance évolutive à l'origine mésodermique de la glande surrénale.

Dès le début de nos recherches sur les paraganglions, en 1906, il nous parut possible d'apporter sur ce point d'anatomo-pathologie une opinion dualiste et des descriptions plus précises : elles s'appuyaient sur une série de recherches embryologiques concordantes effectuées par plusieurs auteurs, sur celles, plus récentes, de Soulier, et enfin, sur nos propres recherches de vérification limitées au point particulier de l'organe de Zuckerkandl.

Les faits suivants pouvaient être considérés comme acquis à cette date :

1° Les deux substances corticale et médullaire se constituent aux dépens d'ébauches embryonnaires distinctes.

2° L'ébauche de la substance corticale provient de l'épaississement de l'épithélium cœlomique qui apparaît de très bonne heure peu après le pronephros. Une série de massifs épithéliaux d'aspect éosinophile se forment au voisinage de l'aorte et de la racine du mésentère, près de l'épithélium germinatif, mais toujours distincts de lui et parfois précédant son apparition.

3° Beaucoup plus tardive que la corticale dans son organisation, la substance médullaire se constitue aux dépens d'éléments embryonnaires qui se rattachent au système grand sympathique et qui évoluent vers le type glandulaire. Cette ébauche, primitivement commune avec les paraganglions lombaires, affecte dans son ensemble, comme nous l'avons indiqué, la forme d'un Y dont les branches supérieures atteignent le bord interne des capsules surrénales en passant entre l'artère et la veine rénale de chaque côté.

Simplement accolée au cortex, elle gagne ensuite progressivement le centre de la glande. Les tractus ou filets irrégulièrement anastomosés de l'ébauche sympathique dissocient les cordons primitifs du cortex. La pénétration des éléments parasympathiques vers le centre de la glande et la transformation en cellules de la médullaire continuent bien après la naissance, alors que la substance corticale a atteint depuis longtemps son organisation définitive.

Ces diverses notions embryologiques peuvent être considérées aujourd'hui comme confirmées, en dépit de quelques

(1) Woolley, Ein primärer, karcinomatoider Tumor (Mesothelioma) der Nebennieren mit sarkomatosen Metastasen. *Virchow's Archiv für pathologische Anatomie*, t. 172, 1903.

travaux divergents, dont certains très récents sont venus tout remettre en question.

Sans revenir ici sur une discussion qui sortirait du cadre de notre sujet, il convient de signaler les recherches ou les conclusions qui ont pu être plus particulièrement le point de départ d'opinions anatomo-pathologiques erronées.

Ainsi, pour Gottschau, les deux substances naissaient d'une formation mésodermique initiale et ne se différenciaient que tardivement à la fin de la période fœtale. Cette formation initiale dérivait elle-même du mésenchyme contigu aux parois veineuses (veine cave). Un peu avant la naissance, des cordons épithéliaux se détachaient de la périphérie du cortex et migraient vers la région centrale pour former la médullaire. L'évolution se continuait chez l'adulte de telle sorte que la périphérie de la surrénale était le siège d'une néoformation continuelle, tandis que, dans la médullaire, s'effectuait une destruction permanente d'éléments destinés à se perdre dans le sang de la veine centrale. Gottschau reconnaissait ainsi quatre zones dans la surrénale : bulbeuse, germinative, fasciculée, consomptive ; celle-ci correspondant à la médullaire et à la réticulée réunies.

L'inexactitude de ce schéma est démontrée non seulement par l'embryologie, mais encore par une série de faits anatomo-pathologiques sur lesquels nous avons attiré l'attention, tels que l'aplasie limitée à la substance médullaire (anencéphales) et la dégénération totale du cortex, au cours d'un processus chronique avec médullaire intacte ou même hyperplasiée. Le cycle évolutif de Gottschau peut être maintenu surtout si l'on admet, comme nous l'acceptons volontiers, le rôle régénérateur de la glomérulée, mais il doit manifestement être limité à la substance réticulée.

Un travail récent d'Ameuille (1) confirme bien, comme nous le disons plus haut, que toute erreur embryologique a sa contre-partie en anatomo-pathologie.

« En considérant, dit cet auteur, combien facilement, chez le cheval comme chez l'homme, les cellules de la médullaire

(1) Ameuille, Cancer des capsules surrénales. *Association française pour l'étude du cancer*, mai 1911.

prennent les caractères de celles de la corticale, et *vice versa*, on peut se demander s'il est bien indispensable de préciser autant le point de départ des tumeurs qui naissent dans la surrénale. »

Nous ne croyons pas devoir nous arrêter à cette assertion d'Ameuille qui eût gagné à être appuyée par son auteur sur des arguments histologiques, surtout en ce qui concerne la prétendue facilité de la transformation « chez le cheval comme chez l'homme »!

Nous continuons à penser que la recherche du point de départ des tumeurs surrénales est d'autant plus importante qu'elle se rattache à la question fondamentale de l'origine et de la topographie de l'adrénaline.

Contrairement aux vues de certains auteurs (Abelous, Soulié et Toujan), nous pensons que la médullaire est seule adrénalinogène; les tumeurs, selon leur provenance, seront ainsi cholestérinogènes ou adrénalinogènes.

L'hypothèse embryologique d'un blastème unique, soutenue primitivement par les embryologistes tels que Remack, Valenti, Janosik et Aichel, a été reprise plus récemment par Roud (1903) chez la souris; mais c'est surtout le travail de Colson (1) qui est venu remettre en question la notion du dualisme. Colson a étudié, après fixations osmiques, l'histogénèse de la capsule surrénale de l'embryon de la chauve-souris, et son travail a été effectué, au laboratoire de van der Stricht, dans des conditions techniques remarquables dont témoignent les magnifiques photogravures qui l'accompagnent. L'auteur a été amené à cette conclusion paradoxale que le cortex surrénal s'édifierait aux dépens des cellules parasympathiques, qui élaboreraient de nombreuses granulations graisseuses au sein de leur cytoplasme.

La médullaire aurait une ébauche primordiale (et non pas secondaire, comme on le croit, par rapport au cortex), identique à celle des ganglions sympathiques.

Il nous semble difficile d'admettre que les stades fondamentaux de l'organogénèse surrénale puissent s'effectuer chez la

(1) R. Colson, Histogénèse et structure de la capsule surrénale adulte. *Archives de Biologie*, 1910.

chauve-souris d'une façon aussi différente de ce que l'on observe chez les autres mammifères et les conclusions de l'histologiste belge sont certainement dues à ce qu'il n'a pas cru devoir utiliser la réaction chromaffine qui aurait évité toute confusion.

Du reste, l'histogénèse de certains sympathomes embryonnaires, ainsi que nous l'avons remarqué avec M. Alezais, contredit formellement son interprétation.

Une des tumeurs étudiées, développée chez un enfant de quatre ans, occupait la place de la médullaire surrénale absente; ces traînées cellulaires, riches en rosettes, refoulaient et dissociaient les cordons d'un cortex pourvu de spondiocytes. Cette morphologie néoplasique (parasympathome) confirme l'indépendance et l'apparition secondaire aux dépens du sympathique, de l'ébauche de la médullaire : si le cortex se développait suivant les vues de Colson aux dépens des formations parasympathiques, on ne pourrait expliquer le développement d'un parasympathome laissant intacts les cordons corticaux.

En résumé, on peut dire qu'à la dualité embryologique des surrénales se surajoute une dualité histologique, qui est en même temps une dualité fonctionnelle, et aboutit à une dualité pathologique. Cette formule donnée par nous antérieurement ne saurait d'ailleurs restreindre l'importance de la symbiose encore mal connue, mais très vraisemblable, qui unit la cellule à cholestérine et la cellule à adrénaline dans leur vascularisation, leur trophisme et leurs sécrétions.

CHAPITRE IV

ÉTIOLOGIE ET FRÉQUENCE

Nous reconnaissons, dans la capsule surrénale, deux types de tumeurs épithéliales : l'une provenant des éléments chromaffines de la substance médullaire, le paragangliome, l'autre d'origine corticale, le cortico-surrénalome (1).

D'une façon générale, la fréquence des tumeurs épithéliales par rapport aux sarcomes est beaucoup plus grande que ne l'indiquent les statistiques classiques.

Lecène, sur 43 tumeurs qu'il avait pu grouper, trouvait 27 sarcomes et 16 carcinomes; Rolleston et Marks, sur 24 observations réunies en 1898, comptaient 15 sarcomes.

Cette statistique est à reviser si nous en jugeons d'après les nombreuses tumeurs surrénales que nous avons pu recueillir ou dont les pièces histologiques nous ont été communiquées : la proportion des sarcomes n'atteindrait pas un cinquième de celle des épithéliomes malins de la surrénale. Rappelons, à ce propos, la remarque formulée avec M. Alezais, dans les conclusions de notre travail sur les sympathomes embryonnaires : le groupe des sarcomes congénitaux surrénaux et péri-surrénaux est destiné à disparaître presque complètement en passant dans celui des sympathomes embryonnaires. Nous sommes donc

(1) Postérieurement à notre note préliminaire sur les paragangliomes, et à propos d'une tumeur du cortex surrénal, Ciaccio a proposé, pour notre groupe, le nom de chromaffinome. Cette dénomination nous paraît devoir être écartée comme dépourvue de valeur morphologique, la chromaffinité ne représentant qu'un caractère transitoire.

amené à formuler de nouveau, comme pour les tumeurs du paraganglion carotidien, une restriction du groupe des sarcomes.

Le paragangliome surrénal est infiniment plus rare que le cortico-surrénalome, surtout dans son type malin, dont nous décrirons plus loin le seul exemple rencontré. Nous ne croyons pas à l'existence d'un type mixte de néoplasie intéressant à la fois les deux substances : la tumeur surrénale appartient à un seul type, soit par localisation primitive, soit par prédominance rapide au niveau de l'une d'elles.

Cette rareté du paragangliome surrénal et surtout de sa malignité peut être rapprochée de la longue évolution embryonnaire de la cellule médullaire qui provient du neuro-ectoderme et passe, avant de devenir adulte et chromaffine, par les divers stades de neurocyte, sympathogonie, etc.

Quoi qu'il en soit, le stade d'adénome, d'après nos recherches, ne doit plus être limité comme on l'admettait avec Virchow, au cortex surrénal. L'adénome surrénal, *le goitre surrénal*, de Virchow, était une tumeur d'origine et de structure exclusivement corticale. C'est d'après cette notion classique que Letulle disait, dans son travail sur les surrénalites modulaires et l'adénome surrénal, que les processus de cette nature « respectent toujours les éléments de la substance médullaire ».

Nous avons, au contraire, mis en évidence, dans notre mémoire de 1912, l'existence de l'adénome pur, en faisant remarquer que cette tendance à la bénignité est beaucoup plus marquée encore que dans les tumeurs du cortex. Cette tendance du paragangliome surrénal à rester à l'état d'hyperplasie bénigne mérite d'autant plus d'être soulignée, qu'elle ne paraît nullement liée à l'existence simultanée d'une sclérose. Elle semble, au contraire, émancipée de ce lien étiologique, que les recherches classiques sur les cirrhoses du foie (Sabourin), la surrénalite modulaire (Letulle, Pilliet) sur certaines scléroses du rein et du corps thyroïde semblaient avoir imposé aux adénomes glandulaires.

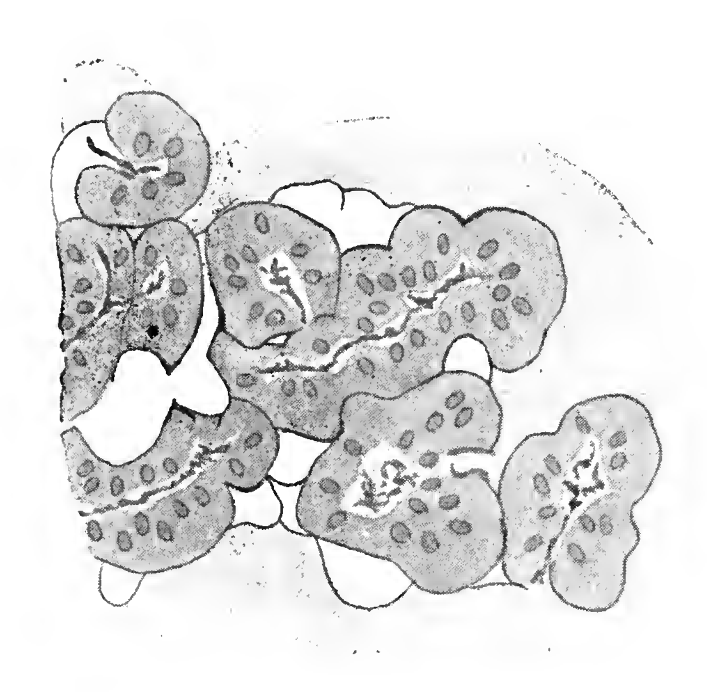
CHAPITRE V

LE PARAGANGLIOME SURRÉNAL AU DÉBUT

A. — Morphologie normale de la médullaire.

Rappelons rapidement quelques données essentielles sur la morphologie normale de la médullaire, en particulier chez l'homme et chez le cheval. Elle offre des cavités veineuses à parois délicates, entourées de lames connectives généralement minces, qui constituent, avec les endothéliums vasculaires, un réseau irrégulier dont les mailles sont comblées par des éléments glandulaires. Ces capillaires veineux, qui appartiennent au type sinusoïdal (Minot) (1), ont des contours sinueux, un calibre irrégulier, parfois très dilaté. L'endothélium est, par place, d'une minceur extrême et il paraît même pouvoir faire défaut, mais nous verrons plus loin qu'il s'agit alors de certaines cavités ou espaces lacunaires représentant plutôt des prolongements ou diverticules temporaires du système vasculaire à l'intérieur des cordons glandulaires. Assez souvent, les éléments épithéliaux affectent une disposition régulière en collerette autour du capillaire veineux qui les centre. Ainsi se constituent des dispositions palissadiques qui nous ont paru, comme à Wiesel, particulièrement marquées dans les surrénales humaines en état d'hyperplasie. Chez le cheval, elles sont très nombreuses à l'état normal.

(1) Minot, On a hitherto unrecognised form of blood circulation, in the organs of Vertebrata. *Proceed. of the Boston Soc. of nat. history*, 1900.



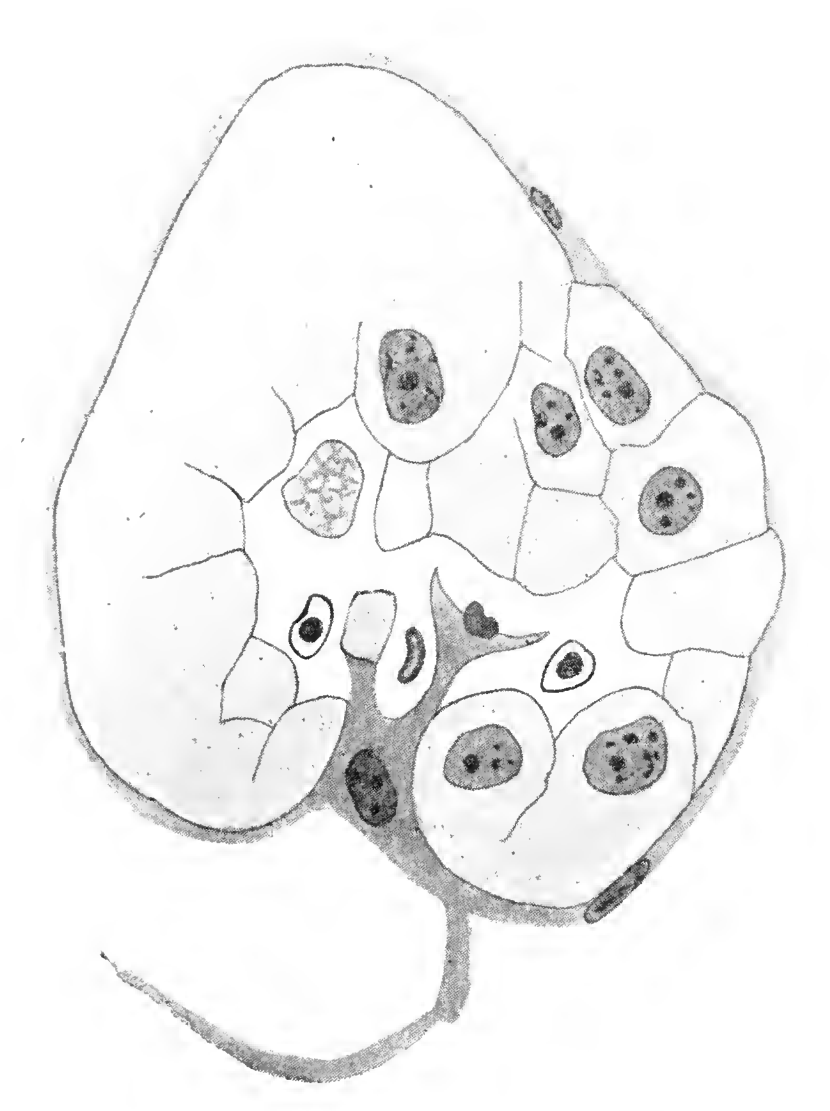


Fig. 1 et 1 *bis*. — Empruntées à *Lydia Félicine* et représentant les lacunes axiales de la médullaire surrénale normale.

Dans la plupart des points, les cordons épithéliaux offrent à la coupe des dispositions irrégulières ; ils se divisent, s'incurvent et se tassent d'une façon variable à l'intérieur des cloisons connectives qui les rattachent aux axes veineux ; leur périphérie peut entrer en rapport avec de minces capillaires de stroma qui vont s'unir plus ou moins directement aux sinusoïdes proprement dits, mais dont l'aspect est bien différent de ces derniers.

Dans les zones palissadiques, le noyau est généralement excentrique, siégeant dans la partie la plus éloignée de la lame endothéliale ; mais ailleurs, cette polarisation est plus difficile à retrouver. Une disposition contraire (segment nucléé interne) s'observe au niveau des lacunes axiales. On désigne sous ce terme des cavités d'aspect plus ou moins régulier à la coupe, toujours très étroites et qui pénètrent à une distance variable dans l'intérieur des cordons glandulaires. Elles se distinguent des sinusoïdes par leur calibre généralement exigu et irrégulier, l'absence fréquente à leur niveau d'un revêtement connectif, ou du moins d'une assise endothéliale régulière, et la topographie des cellules glandulaires dont le segment nucléé, ordinairement irrégulier, borde la lumière de la cavité lacunaire.

Ces lacunes axiales ont été minutieusement décrites par Lydia Félicine (1) qui avait saisi leur rapport, d'une part avec les canalicules transitoires inter- et intracellulaires, d'autre part, avec les capillaires veineux. Mais elle paraît les considérer comme des formations permanentes du système vasculaire surrénal ; opinion que nous ne partagerions pas complètement.

Pour nous, l'origine de la lacune axiale *au moins chez le cheval et chez l'homme* correspond souvent au point de confluence, à une distance variable de l'endothélium, des vacuoles intracytoplasmiques qu'on trouvera décrites plus loin.

Les lacunes elles-mêmes représenteraient des communications plutôt temporaires entre les capillaires d'une part, et les grandes vacuoles dans lesquelles s'effectue la fonte plasmatique des grains chromaffines.

Quoi qu'il en soit, ce point de morphologie est étroitement

(1) Lydia Felicine, Ueber die Beziehungen zwischen dem Blutgefussystem und den Zellen der Nebennieren. *Archiv für mikroskop. Anatomie*, Band LXIII.

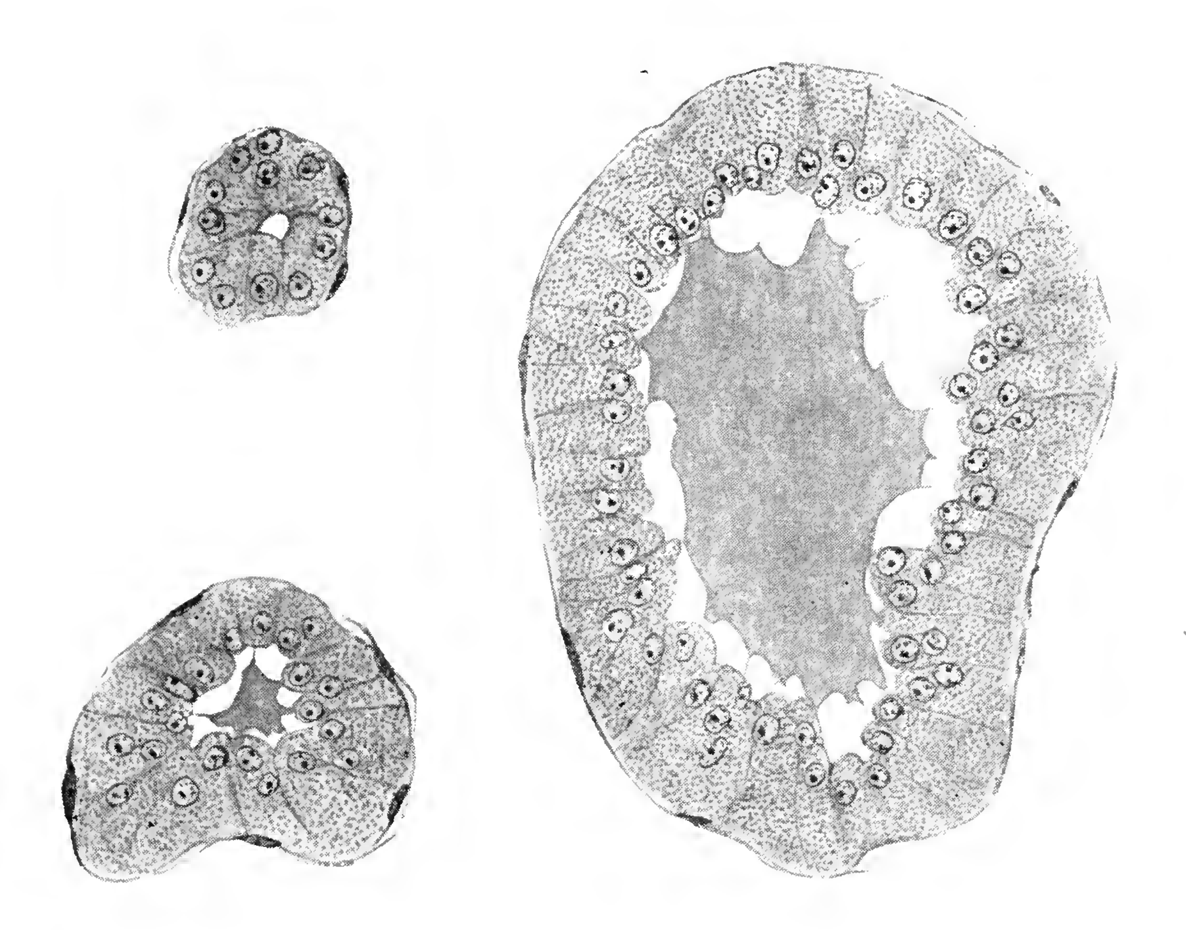


Fig. 2. — Formes de passage entre la lacune axiale normale et les cavités de la tumeur. Cheval. Paragangliome bénin. Tumeur n° 1.



Fig. 3. — Cavités intra-épithéliales de la tumeur. Paragangliome bénin. Tumeur n° 1.

lié à la question du tropho-spongium d'Holmgren (1), retrouvé par cet auteur dans la surrénale et surtout à celle des origines du système lymphatique surrénal, que Kumita (2) prétend avoir décelées par la méthode des injections au niveau précisément des espaces intercellulaires. Mais nous pensons que le rôle du système lymphatique dans l'excrétion surrénale est des plus douteux.

B. — Configuration générale du paragangliome au début.

La description est rendue malaisée par la difficulté habituelle, mais particulièrement marquée ici, d'établir une démarcation nette entre les dispositions de l'hypertrophie glandulaire simple et l'adénome proprement dit. Deux aspects se rencontrent souvent, qui nous paraissent, en réalité, pouvoir être rapportés plutôt à la première qu'au second. L'un résulte de l'hyperplasie régulière autour des axes vasculaires des cellules chromaffines à topographie palissadique susceptibles de garder longtemps leur forme et leurs dimensions normales. Le second, particulièrement typique chez le cheval, se traduit par des épaississements localisés des cordons qui peuvent être marqués au point de produire dans la lumière vasculaire une véritable hernie accompagnée de modifications histologiques (syncytiums chromaffines) qui seront décrites plus loin.

En fait, et malgré la définition classique, nous ne reconnaîtrions l'adénome qu'à partir d'un stade auquel les volumineux capillaires sinusoïdaux de la médullaire normale s'effacent ou disparaissent. Les éléments épithéliaux paraissent alors groupés d'une façon variable; en certains points, ce sont des massifs épithéliaux volumineux que circonscrivent des cloisons conjonctives à dispositions alvéolaires (fig. 4 de notre Mémoire de 1912, chez le bœuf). Ailleurs les éléments cellulaires constituent des nappes diffuses, sans orientation périvasculaire bien marquée (fig. 5). C'était le cas dans un paraganglion humain (fig. 6 de notre Mémoire de 1912) dans lequel les limites

(1) Holmgren, Beiträge zur Morphologie der Zelle, *Anatomische Hefte*, 1904.
(2) Kumita, Ueber die parenchymatösen Lymphbahnen der Nebennieren. *Archiv für Anatomie und Physiologie*, An. Abt. 1909, p. 321.

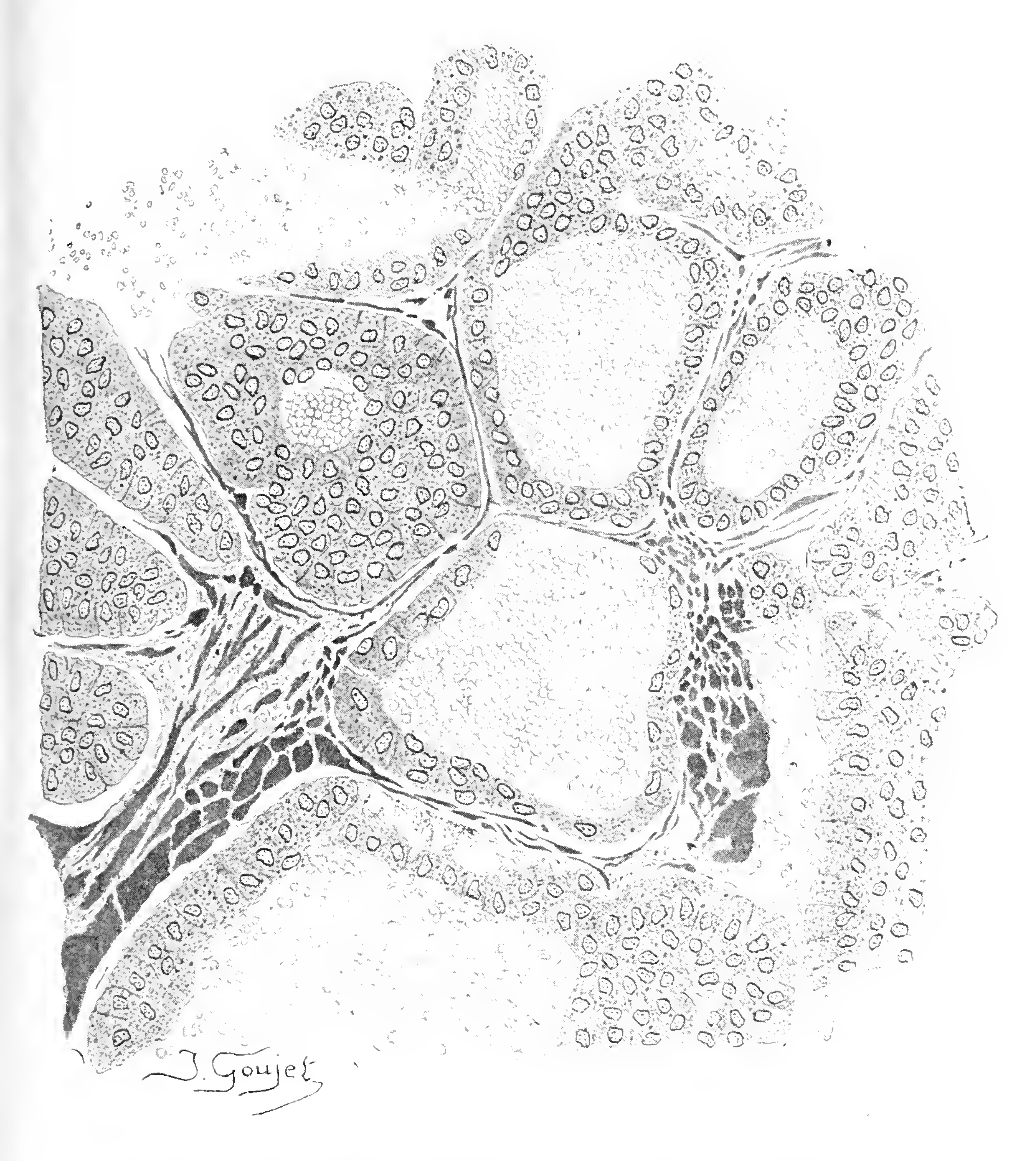


Fig. 4. — Paragangliome bénin chez un cheval. Tumeur n° 2. Hémorragies dans les grandes cavités lacunaires. (Bouin, hématoxyline, éosine.

cellulaires étaient difficiles à percevoir. Dans un paragangliome du mouton (fig. 7) on notait la même topographie diffuse avec une extrême rareté des cloisons conjonctivo-vasculaires ; par contre, les limites cellulaires gardaient leur netteté dans la plupart des points. Cette même tumeur offrait dans une zone très localisée une orientation radiaire des travées glandulaires et des assises endothéliales qui rappelait à s'y méprendre la disposition normale de la zone fasciculée du cortex (fig. 15).

Néanmoins, sous ces variations d'aspect, on peut retenir deux particularités comme caractéristiques des premiers stades de la néoplasie.

Ce sont :

1° L'existence de cavités lacunaires de volume souvent considérable qui représentent pour nous des lacunes axiales agrandies et déformées ;

2° La présence de cordons ou boyaux syncytiaux à cytoplasme dense, véritables nids cellulaires plurinucléés, rappelant les amas de petites cellules chromophobes de l'hypophyse.

Nous allons les résumer successivement :

1° Existence de cavités lacunaires.

Les cavités lacunaires existent, comme nous l'avons indiqué précédemment, à l'intérieur des cordons du paraganglion surrénal à l'état normal. Colson, après Lydia Félicine, a décrit leur lumière, tantôt régulière et étroite (pseudo-acineuse), tantôt irrégulière et mal limitée (fig. 1 et 1 *bis*). Nous leur avons précédemment assigné pour fonction de collecter les produits d'excrétion des cellules qui les bordent jusqu'aux capillaires veineux.

Ces cellules montrent un noyau situé à la partie interne, vers la lumière de la lacune et baignant dans un cytoplasme d'aspect souvent irrégulier, déchiqueté, en raison des phénomènes de désagrégation et de fonte cellulaire qui s'accomplissent à ce niveau. Il semble, d'ailleurs, que le noyau ne participe pas toujours à cette dégénérescence physiologique qu'on observe, au contraire, facilement dans les zones palissadiques où la pycnose paraît coïncider dans certains corps chromaffines avec l'excré-

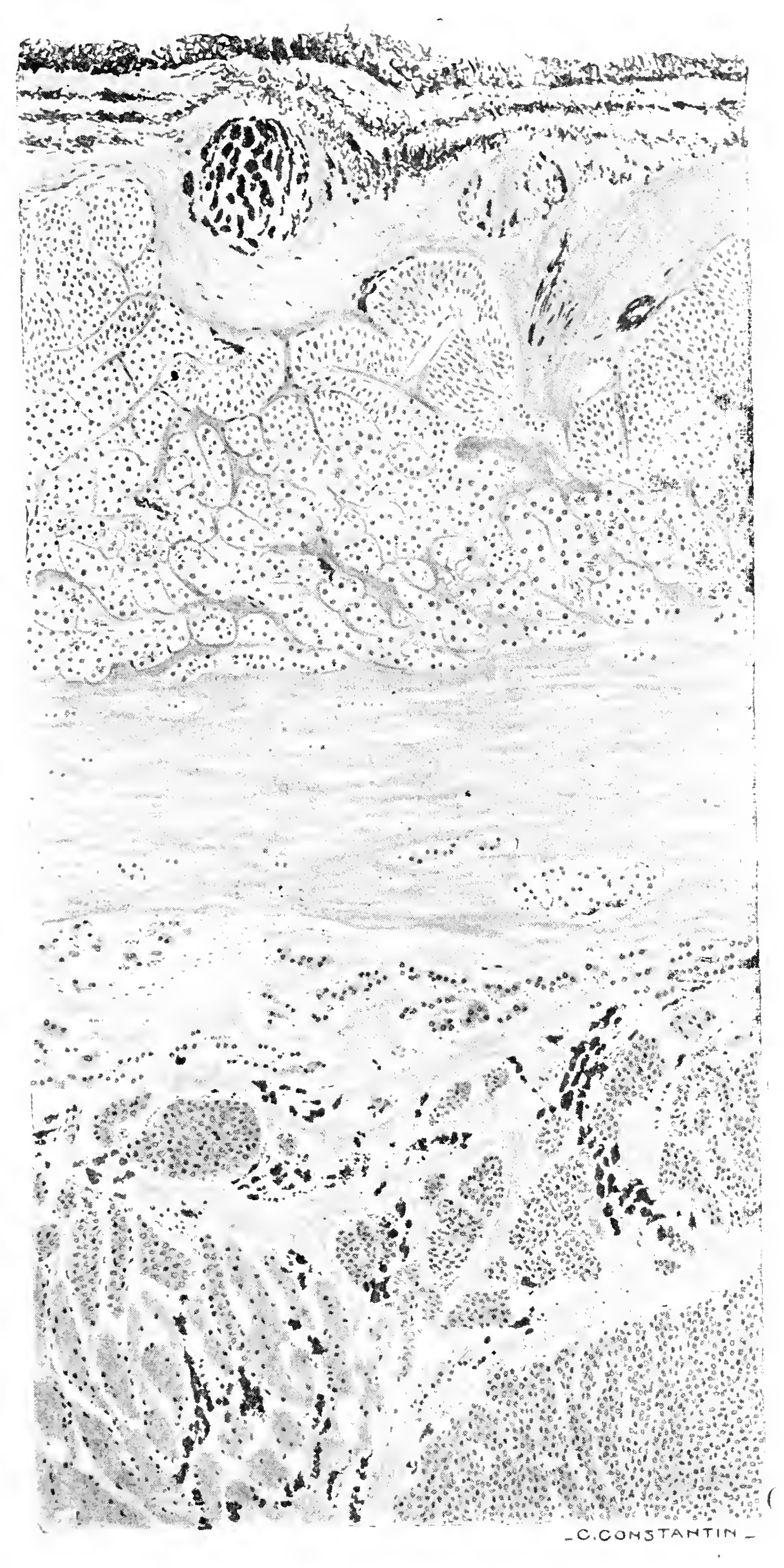


Fig. 4 *bis*. — Paragangliome surrénal. Cheval. Tumeur n° 4. (Bouin, hématoxyline ferrique, Van Gieson.)

En haut : le cortex refoulé; en bas : la tumeur avec une infiltration pigmentaire très marquée.

tion intravasculaire du matériel élaboré. Ici, le processus ne serait donc pas holocrine mais seulement mérocrine.

Les lacunes axiales montrent, à l'état normal, de grandes variations qui sont assez souvent d'ordre topographique : coudure ou tassement par des cordons voisins, par un vaisseau, etc. Nous inclinerions à les considérer comme des diverticules temporaires du système vasculaire appelés, suivant les nécessités d'un cycle physiologique, à disparaître et à se reconstituer successivement à l'instar de ce qu'on observe dans l'hypophyse.

Or de telles cavités lacunaires s'observent particulièrement nombreuses dans le paragangliome du cheval, qui constitue un matériel de choix pour suivre leur genèse aux dépens des lacunes normales ainsi que leur accroissement ultérieur. Il suffit d'examiner la partie périphérique de la tumeur, dans la zone où elle s'incorpore le tissu chromaffine resté sain (fig. 2 et 3). Toutes ces cavités sont primitivement restreintes et complètement dépourvues d'endothélium ainsi que de globules rouges (fig. 6); la plupart renferment des produits de cytolyse sous forme de flocons prenant avec intensité la laque ferrique. On peut y rencontrer, en outre, des fragments nucléaires et cytoplasmiques dont l'aspect figuré se dégrade progressivement.

Des hémorragies secondaires s'effectuent fréquemment dans ces cavités intra-épithéliales qui pourraient alors en imposer pour des capillaires distendus et rompus (fig. 4). Leur revêtement, toujours unicellulaire au début, avec segment nucléé interne, devient pluri-stratifié, et la topographie des noyaux est alors irrégulière. Lorsque la paroi épithéliale a été refoulée par une hémorragie, ses rapports avec les capillaires endothéliaux de la périphérie deviennent plus intimes ; la multiplication des cellules du revêtement donne lieu à des plissements qui entraînent des dispositions papillaires ou périthéliales.

Mais, ces diverses modifications secondaires étant mises à part, lorsqu'on suit la constitution de ces cavités qui sont très nombreuses et volumineuses, on est frappé par leur analogie évidente avec la lacune axiale normale de la médullaire et du paraganglion de Zuckerkandl, dont elles figurent, en somme, un agrandissement.

Ainsi se révèle, par l'étude de la morphologie néoplasique

Fig. 5. — Paragangliome bénin. Cheval. Tumeur n° 3.
(Bouin, hématoxyline ferrique, éosine.)

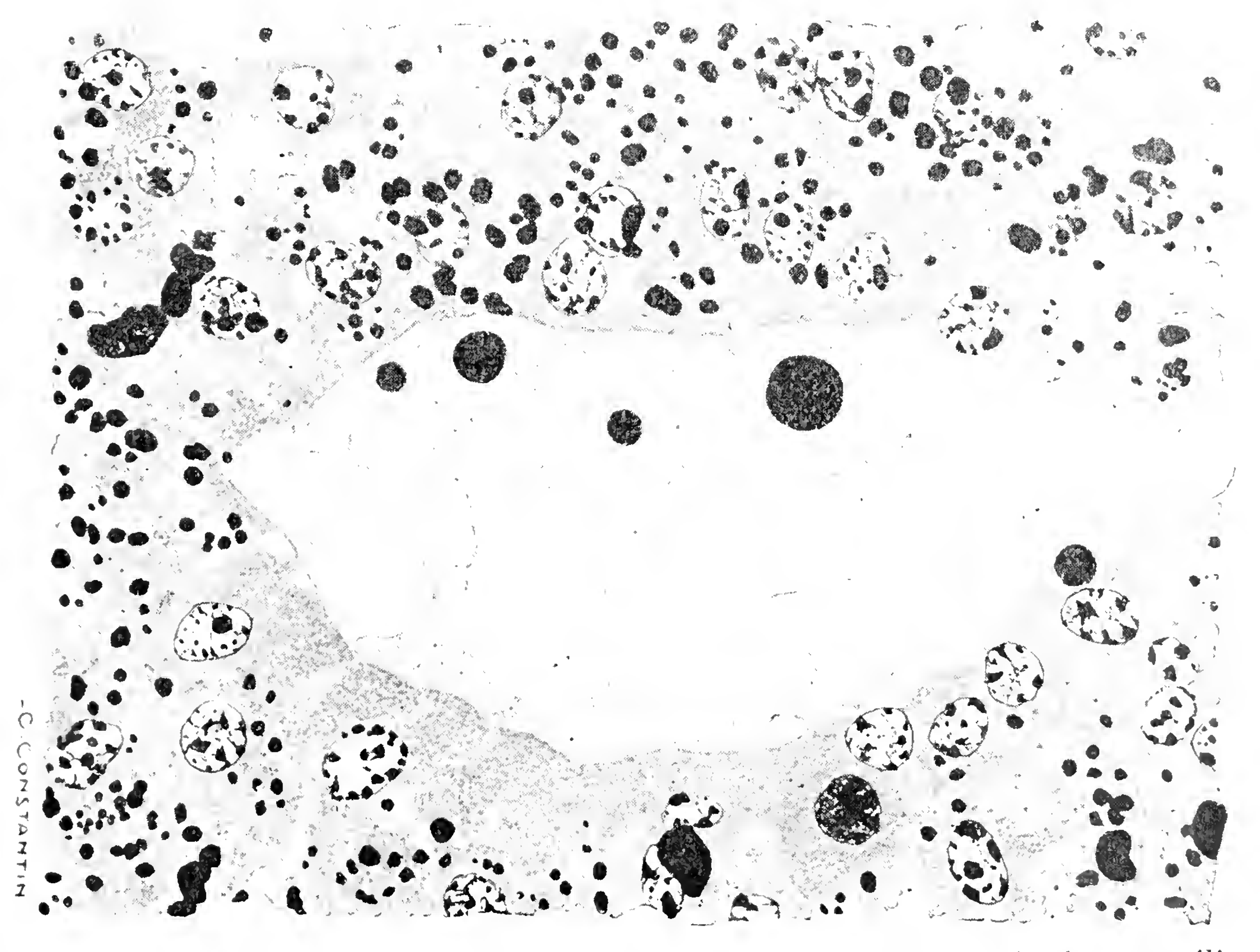


Fig. 6. — Fort grossissement 1/1.000 de la cavité lacunaire située au milieu et à droite de la figure précédente. Lipoïde dégénératif.

au début, et avec une netteté beaucoup plus grande qu'à l'état normal, une tendance évolutive caractéristique du tissu chromaffine, et qui permet de le rapprocher des autres tissus endocrines (hypophyse, thyroïde, parathyroïde, îlots de Langerhans du pancréas) dans lesquels les cordons glandulaires se creusent de cavités primitivement indépendantes des endothéliums vasculaires.

Ainsi nous reprendrions volontiers, en la complétant, une conception récente et très heureuse de Laguesse, qui voit dans la vésicule close une formation caractéristique des glandes endocrines (1).

2° Cordons a dispositions syncytiales.

Leurs caractères seront plus facilement décrits par l'étude histologique faite plus loin. Indiquons qu'il ne s'agit pas ici des syncytiums adrénalinogènes, plurivacuolés, riches en enclaves, décrits dans le cycle histo-physiologique normal. Ils succèdent, au contraire, très vraisemblablement à ces derniers, et représentent une forme de rénovation cellulaire avec repos glandulaire. Sous forme de cordons allongés, irrégulièrement anastomosés, ou de zones diffuses ou encore de petits amas circonscrits par des alvéoles, ils constituent des masses homogènes de cytoplasme sans limites cellulaires, sans vacuoles ni grains chromaffines (fig. 4 *bis*) ; les noyaux subissent une transformation remarquable ; de vésiculeux et hypochroma-

(1) Laguesse, *Bibliographie anatomique*, 1910, 1911, t. XXI, s'exprime ainsi qu'il suit :

« La vésicule close n'est pas spéciale à la thyroïde ; au contraire, immédiatement après le cordon plein qui reste l'élément essentiel, la vésicule close, qui est un accident, une variation locale, nous paraît être une formation caractéristique des glandes endocrines d'origine franchement épithéliale. Comme on voit, par place, des cordons creux dans les surrénales (d'origine mésothéliale), nous pourrions peut-être retrancher un jour les trois derniers mots de cette conclusion, et toute restriction sur ce point. »

Mais le savant histologiste de Lille, par cette restriction, n'a voulu désigner que le cortex surrénal dont l'ébauche se constitue aux dépens du feuillet moyen. De fait, plusieurs auteurs ont décrit des cavités intra-épithéliales dans la substance corticale, en particulier au niveau de la zone glomérulée. Notre remarque vise, au contraire, la substance médullaire à l'état normal et dans ses tumeurs. Nous retrouverons plus loin ces cavités intra-épithéliales dans les tendances évolutives primitives du paragangliome malin et de ses métastases.

Fig. 7. — Paragangliome du mouton. Un des rares points de la tumeur offrant des axes vasculaires volumineux.

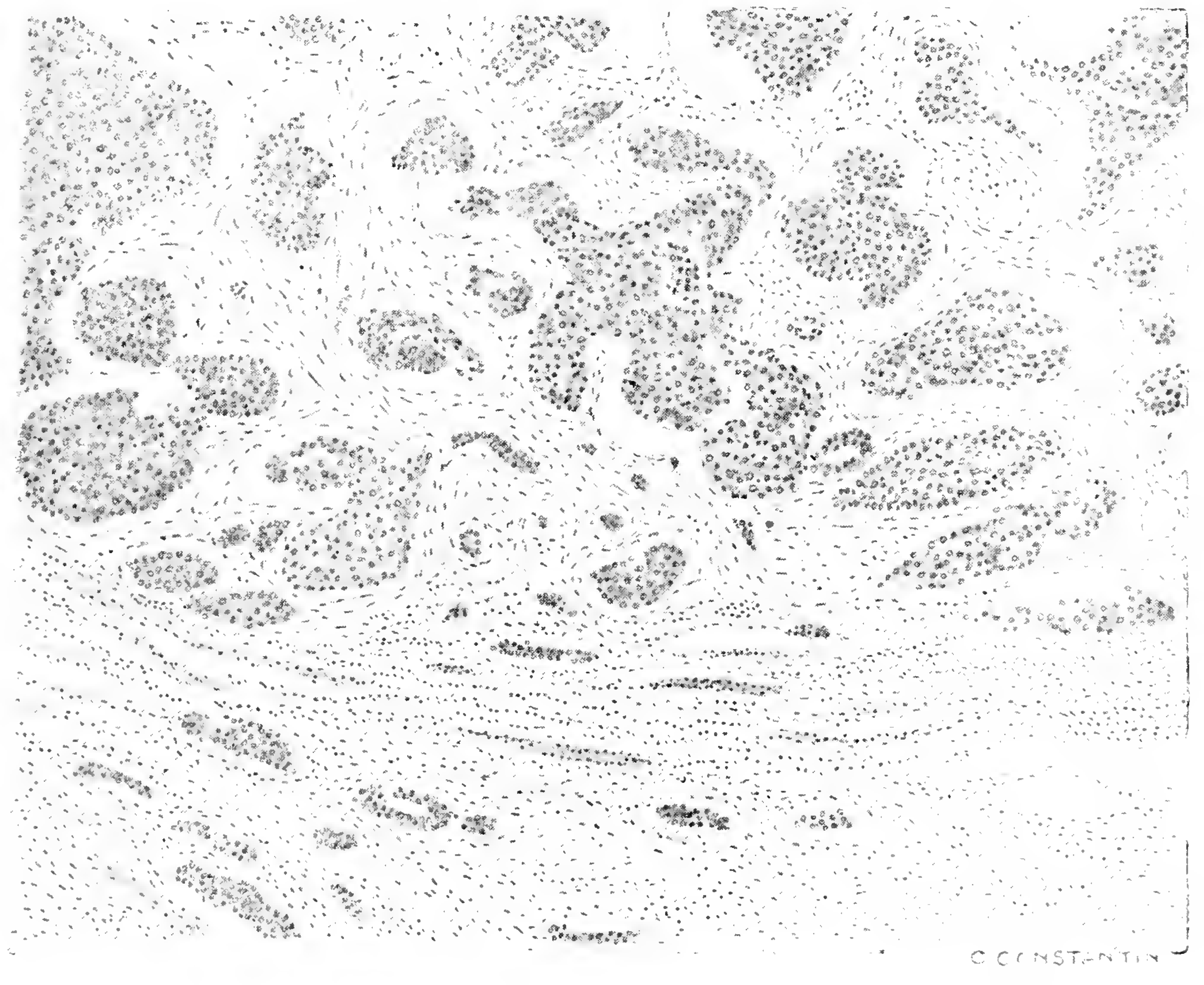


Fig. 8. — Paragangliome surrénal malin; tumeur primitive.

tiques, ils deviennent ovoïdes avec de très faibles dimensions et un réseau généralement serré. Le clivage amitotique paraît régir presque seul la topographie variable de ces zones syncytiales qui rappellent singulièrement les cordons à petites cellules chromophobes de la glande hypophysaire. Nous les retrouverons plus loin dans l'étude des premiers stades du paragangliome malin, auxquels elles nous ont paru passer assez facilement.

C. — Cytologie du paragangliome au début.

On est frappé, tout d'abord, par l'extrême difficulté de préciser les contours cellulaires. Il n'y a pas de membrane cellulaire nettement délimitée, pas même cet ectoplasme condensé qui pourrait la figurer. Seul le contenu hyaloplasmique (grains, enclaves et vacuoles) se révèle à l'observation; il est donc impossible de délimiter des éléments cellulaires contigus lorsqu'ils se trouvent à un même stade physiologique.

Il faudrait se garder de voir dans ce caractère une disposition spéciale à la morphologie néoplasique : il ne fait que reproduire, au contraire, en l'exagérant, une disposition normale.

Dans les points où s'observent avec netteté des limites cellulaires, elles appartiennent, soit à des cellules irrégulières, soit à des cellules cylindriques et prismatiques :

1° Les cellules irrégulières existent à l'état normal dans la médullaire de l'homme comme dans celle du cheval. Il convient de rappeler que c'est précisément cet aspect étoilé qui était invoqué par Kohn pour assimiler les cellules chromaffines isolées à des éléments nerveux plutôt que glandulaires.

Dans nos tumeurs, les dimensions de ces cellules irrégulières varient dans des limites encore plus étendues qu'à l'état normal : une des figures de notre mémoire de 1912 provenant d'un paragangliome humain fixé au liquide de Muller montrait bien la disposition de ces lames irrégulières intercalées entre les cellules et qui proviennent, en réalité, des prolongements de leurs voisines. Cette figure nous semble illustrer ce que dit excellemment Mulon (1) : « *Il semble que les corps cellulaires*

(1) P. Mulon, Les paraganglions, revue générale. *Paris Médical*, 1913.



Fig. 9. — Paragangliome surrénal malin. Cheval.
Capsule surrénale. Disposition du carcinome alvéolaire. Grossissement 1/150.

aient été semi-fluides sur le vivant et se soient imbriqués les uns dans les autres. »

Mais, malgré cet aspect irrégulier, ils ne cessent pas d'appartenir à la série épithéliale; on ne trouve entre eux ni substance fondamentale ni lames conjonctivo-vasculaires. Les fausses apparences de fibrillation seront rapportées plus loin à leur véritable cause, la rétraction à l'intérieur de la cellule des vacuoles d'excrétion vidées de leur contenu.

Notons, toutefois, la présence, dans certaines lacunes axiales, de bourgeons ou hernies de substance collagène qui paraissent se rattacher à l'axe endothélial auquel aboutit la lacune, et peuvent se prolonger, d'autre part, jusqu'à la bordure des vacuoles intracellulaires ou même dans leur intérieur lorsque la vacuole est rompue ou vidée.

2° Les cellules cylindriques ou prismatiques se rencontrent de préférence autour des capillaires veineux sinusoïdaux; elles sont particulièrement nombreuses à l'état normal dans la surrénale du cheval. Ceci expliquerait pourquoi les dispositions périthéliales restent plus fréquentes dans le paragangliome du cheval que dans celui du bœuf, par exemple.

Les collerettes du paragangliome au début, comme celle du paragangliome normal, offrent un polymorphisme remarquable. Les causes de ces variations d'aspect peuvent être purement topographiques : un tassement localisé, un épaississement local du stroma, un élargissement du calibre d'un vaisseau; mais elles sont surtout fonctionnelles : côte à côte. en effet, se voient des corps cellulaires, les uns à cytoplasme clair, allongés ou ovoïdes (cellules en turgor-Mulon), les autres foncés, nettement sidérophiles, étroits et allongés; certains, enfin, criblés de vacuoles à contour ridé et déchiqueté.

Ces différences expriment, dans la tumeur comme à l'état normal, la diversité des cycles sécrétoires et s'expliquent par la constitution des corps chromaffinés; on peut, avec Mulon, la résumer ainsi que suit. La cellule chromaffine comprend :

1° Un chondriome sous forme de repos (chondrioconte) et d'activité (mitochondries).

2° Des plastes ou grains de sécrétion : ce sont les granulations chromaffines découvertes par Grynfeltt dans le corps suprarénal des Sélaciens : « Ce sont des mitochondries chargées de la substance sécrétée. Ils l'élaborent,

C. CONSTANTIN

Fig. 10. — Paragangliome malin. Cheval.
Surrénale. Massifs épithéliaux. Stroma fibreux. Artériole.

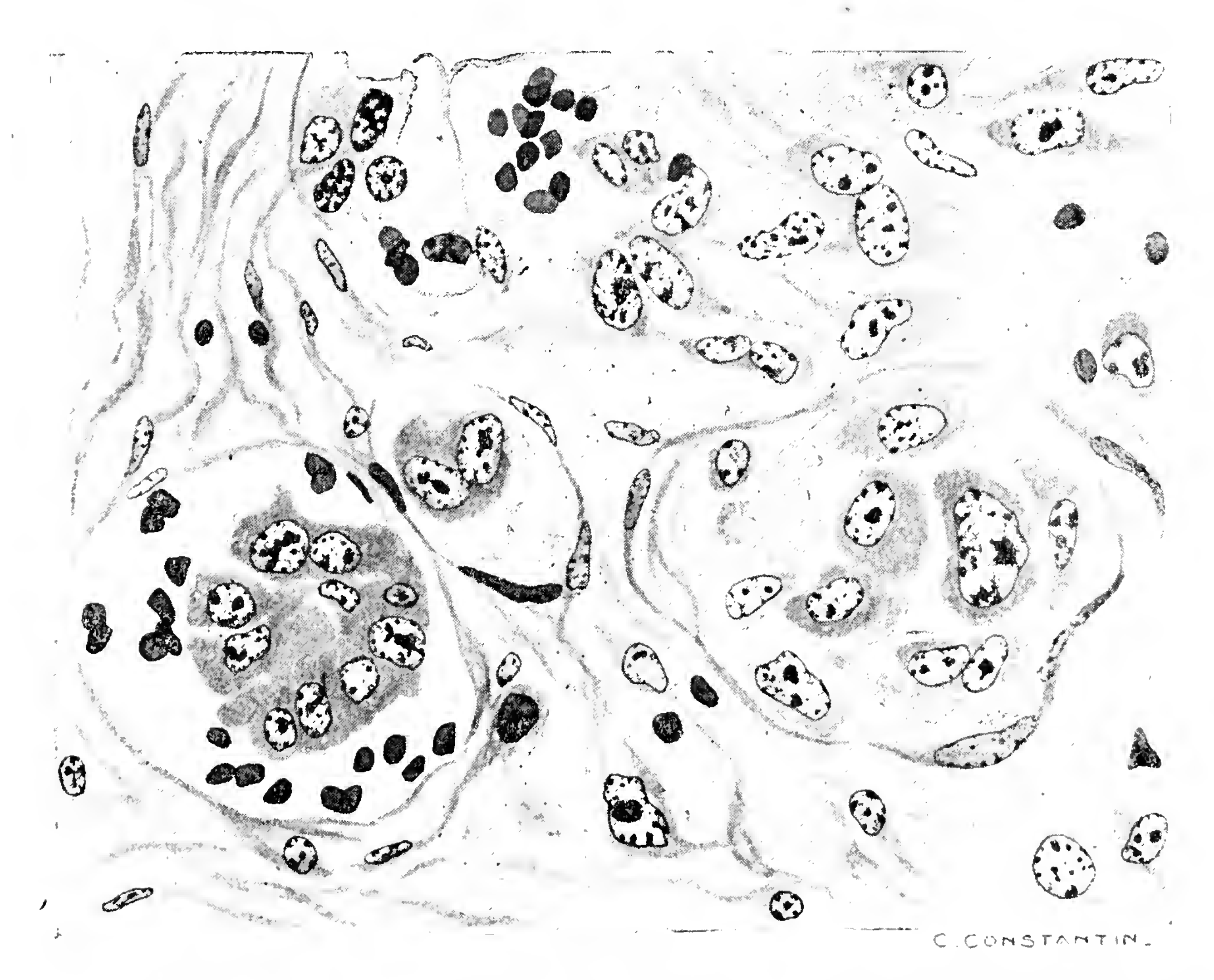


Fig. 11. — Même tumeur. Alvéoles avec gaine conjonctive pseudo-endothéliale.

dit Mulon, en ce sens que c'est sur eux qu'apparaît d'abord, puis augmente d'intensité, la réaction chromaffine. »

3° « L'hyaloplasma, dans lequel s'accumulent les substances sécrétées, est lui-même parfois chromaffine ou sidérophile; il semble donc pouvoir être, à un moment donné, imprégné par la substance qu'élaborent les grains.

« La cellule à adrénaline reste claire et paraît turgescente, tant que l'hyaloplasma ne contient pas d'adrénaline; dès le moment qu'il en contient, la cellule devient très sombre et semble s'affaisser. Ces différences d'aspect tiennent, sans doute, à des différences dans la tension osmotique : la cellule en charge étant hypotonique et la cellule chargée étant hypertonique vis-à-vis du sérum sanguin. »

Au cours de nos premières recherches avec M. Alezais, nous faisions remarquer que, pas plus que Grynfeltt, nous n'étions en mesure de suivre le cycle sécrétoire de la cellule chromaffine. Néanmoins, les types histo-fonctionnels que nous avions pu dégager à cette époque correspondent bien à ceux de la description de Mulon, comme le montrent les diverses figures de notre Mémoire de 1912.

Les variations de ces trois éléments : granulations, vacuoles, enclaves, donnent, disions-nous, à la cellule chromaffine des aspects différents, qui sont nécessairement liés aux phases de la sécrétion :

« *a*) Corps cellulaire régulier, mince, cytoplasme dense, granulations foncées; cellule ayant élaboré sa sécrétion; l'excrétion n'est pas commencée;

« *b*) Même corps cellulaire à granulations foncées, mais petites vacuoles très visibles en raison du fond sombre du protoplasma. Excrétion commençante ;

« *c*) Granulations chromaffines moins foncées; vacuoles plus grandes et plus nombreuses. Cellule en cours d'excrétion;

« *d*) Cellule à contours irréguliers, flétrie, plurivacuolée, sans granulations. Cellule vidée de son contenu et souvent refoulée par ses voisines;

« *e*) Cellule à cytoplasme dense sans granulations; atténuation de la chromaffinité qui trouve son expression la plus nette dans les bandes syncytiales », forme de rénovation cellulaire.

Les *vacuoles* des cellules chromaffines continuent à avoir pour nous une valeur morphologique et physiologique plus grande que ne le pensent beaucoup d'auteurs. Il va de soi que nous ne retenons pas ici les diverses vacuoles de cytolyse ou

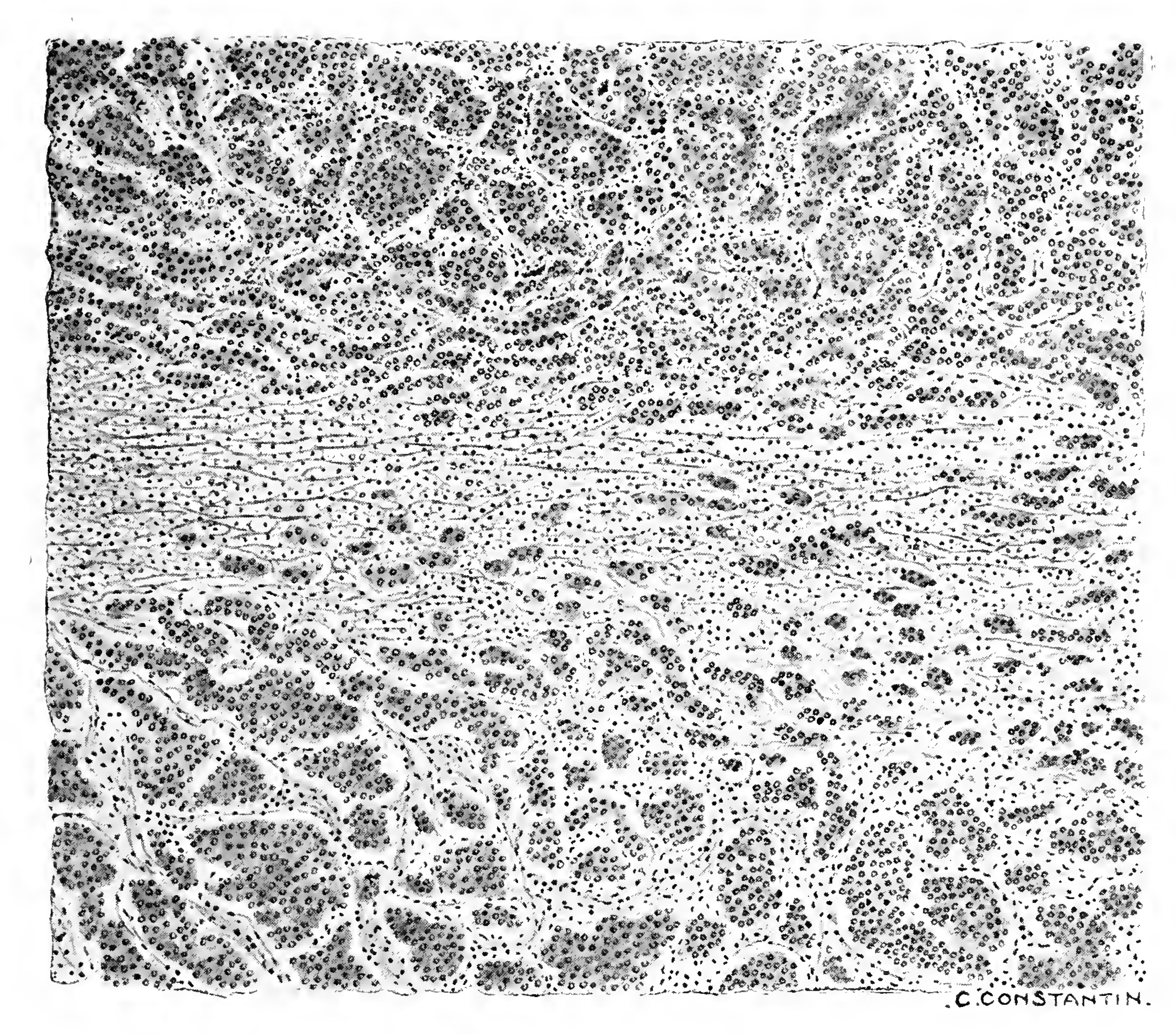


Fig. 12. — Paragangliome surrénal. Cheval. Envahissement du cortex.

C. CONSTANTIN.

Fig. 13. — Même tumeur. Module d'envahissement dans le cortex.

de fixation dues à la vulnérabilité extrême des corps cellulaires. Ainsi, la figure 5 de notre Mémoire de 1912 présente une vacuolisation dans laquelle prédomine certainement la cytolyse. Au contraire, les figures 7, 8, 9 et 10 correspondent pour nous à des dispositions physiologiques. A la périphérie des grandes vacuoles on en voit de plus petites, qui se fusionnent et s'accolent. Ailleurs, des vacuoles, très variables de forme et de taille, sont séparées par des cloisons de granulations plus ou moins foncées, destinées à disparaître progressivement.

D'une façon générale, les vacuoles sont particulièrement nettes au voisinage de l'endothélium à travers lequel transsude le plasma sanguin.

Noyaux.

Les noyaux ont des caractères très variables. On connaissait déjà, à l'état normal, les variations de chromaticité observées par Grynfeltt dans les organes chromaffines des Sélaciens et des Amphibiens; elles sont ici beaucoup plus marquées. A côté de noyaux pourvus d'un réseau chromatique dense et serré, on voit des noyaux hypochromatiques avec un ou deux nucléoles qui paraissent isolés dans un karyoplasme d'aspect particulier. Des formes plissées et plurilobées sont fréquentes; signalons la forme en méduse : un noyau, à face convexe et régulière, donnant par sa face concave un grand nombre de prolongements pédiculés qui s'effilochent dans le cytoplasme. Dans ces noyaux à hernies on trouve ordinairement un nucléole hypertrophique accolé à la face interne de la membrane; les amitoses abondent dans les bandes syncytiales.

Mais la notion la plus importante est la disparition du noyau par la pycnose, ou quelquefois par karyolyse dans les cellules en cours d'excrétion. Mulon l'a décrite et figurée avec plus de précision que nous-même dans le paraganglion normal; il faudrait se garder d'y voir une forme nucléaire pathologique.

Ajoutons enfin la rareté et même l'absence de noyaux dans certains points qui sont, au contraire, riches en enclaves chromatiques.

Fig. 14. — Paragangliome malin. Cheval. Surrénale, partie centrale. (Cliché Jeantet.)

Fig. 15. — Paragangliome du mouton. Aspects rappelant la topographie de la zone fasciculée. (Cliché Jeantet.)

Enclaves.

On trouve dans les vacuoles ou en dehors d'elles, des enclaves diverses : les unes d'origine cytoplasmique, les autres d'aspect chromatique.

a) *Enclaves d'origine cytoplasmique.*

On observe tous les intermédiaires, d'une part entre les petites et les grandes enclaves, comme pour les vacuoles, de l'autre entre les enclaves chromaffines et celles qui ne le sont pas, constatation importante pour établir leur origine. La série des figures 6, 7, 8, 9, 10 et 11 de notre Mémoire de 1912 permettait d'observer toutes ces transitions. Chez le cheval on peut suivre la disparition progressive de la chromaffinité; le stade ultime est un aspect homogène éosinophile; il est suivi par la dissolution de l'enclave dans la vacuole. Lorsque l'enclave a disparu tout à fait, on est conduit à penser (chez le cheval) que la vacuole, complètement vide ou cloisonnée, par des cloisons granuleuses, figure l'origine des lacunes axiales de Lydia Félicine. La signification de ces enclaves est pour nous la suivante : elle résulte d'une fusion ou dissolution des granulations et représente une phase physiologique d'excrétion vacuolaire.

Trompé par la forme arrondie et les dimensions de certaines enclaves éosinophiles, un auteur allemand, Oberndorfer (1), avait émis l'hypothèse pour les cellules chromaffines d'un rôle globuliphage.

On doit manifestement l'écarter en raison des variations de dimensions de ces enclaves, et de leurs rapports avec les grains chromaffines.

b) *Enclaves d'aspect chromatique.*

Nous les avons figurées dans notre Mémoire de 1912. Elles sont constituées par des masses ou grumeaux sidérophiles, les

(1) Oberndorfer, Ueber Untersuchungen an Nebennieren. *Congrès des pathologistes allemands.* Leipzig, 1909.

Fig. 16. — Paragangliome malin. La tumeur, refoulant les travées du cortex, entre en contact avec la zone glomérulée et la capsule conjonctive. (Cliché Jeantet.)

Fig. 17. — Paragangliome malin. Métastase ganglionnaire. (Cliché Jeantet.)

uns allongés, irréguliers, étirés, les autres régulièrement sphériques et répartis autour du noyau dans de petites vacuoles cytoplasmiques. Dans ce dernier cas sont réalisés des aspects pyrénosomiens rappelant ceux décrits dans les expulsions nucléolaires par Vigier et Launoy, et que nous avons signalés avec M. Alezais dans l'hypophyse normale. Toutefois ici nous n'avons pu observer en aucun point l'expulsion de produits chromatiques.

Ces enclaves correspondent certainement à celles qui ont été décrites avec précision par Colson dans le parenchyme médullaire de chauve souris, et qu'il assimile aux pseudo-chromosomes de van der Stricht (1).

Vaisseaux.

Deux questions sont à discuter dans les paragangliomes au début : l'intégrité des axes vasculaires, la présence et la signification des produits intravasculaires.

1° L'endothélium fait défaut, comme nous l'avons indiqué, au niveau des volumineuses cavités qui représentent les lacunes axiales; partout ailleurs, ce n'est que dans des points exceptionnels (zone de congestion ou d'hémorragie) que l'endothélium des capillaires fait défaut. Nous mettons à part, naturellement, les communications temporaires réalisées au niveau des lacunes axiales elles-mêmes, et à la faveur desquelles leur contenu passe dans la circulation veineuse.

2° La question importante du passage dans les vaisseaux de formations cellulaires figurées est toujours controversée pour la médullaire normale. On sait que plusieurs auteurs (Manasse, Hultgreen et Andersson, Carlier) ont décrit dans les vaisseaux des granulations de taille variable, parfois groupées en cha-

(1) Colson a vu des grumeaux sidérophiles « *souvent allongés, étirés*, entourant directement le centrosome à peine perceptible et dont l'une des extrémités est en rapport intime avec le noyau à tel point que certaines images font songer à une origine nucléaire. Elles se colorent d'ailleurs par la safranine ou par l'hématoxyline ferrique d'une manière plus intense que la nucléine du noyau. Nulle part cependant on ne peut constater une expulsion de filaments chromatiques à travers la membrane nucléaire. Au point de vue de leur disposition, de leur rapport avec le noyau et la sphère attractive, de leur colorabilité, ces éléments se comportent comme les pseudo-chromosomes décrits par van der Stricht dans le vitellus des ovules des chauve-souris ».

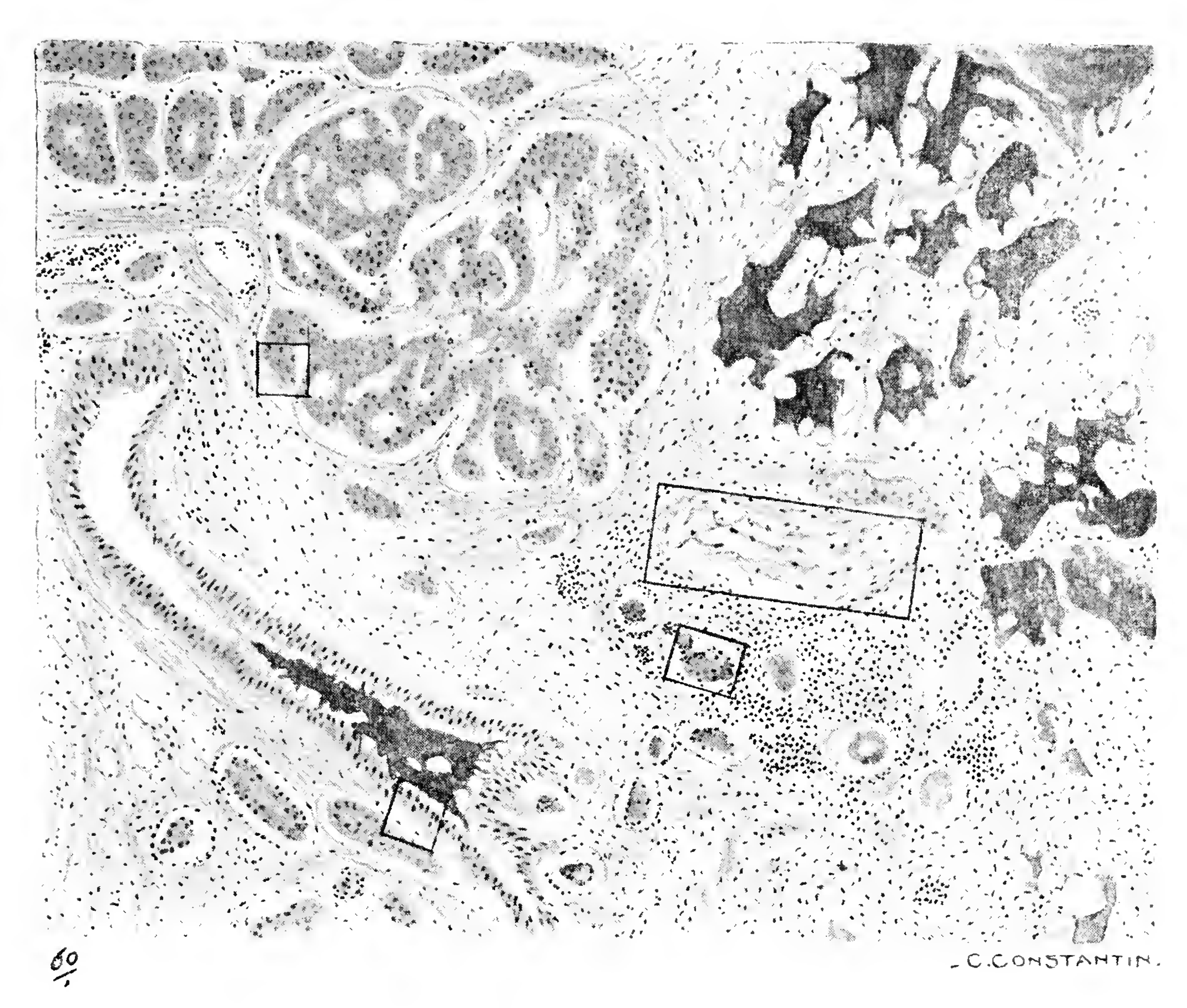


Fig. 18. — Paragangliome malin. Noyau pulmonaire (les cadres désignent les figures suivantes).

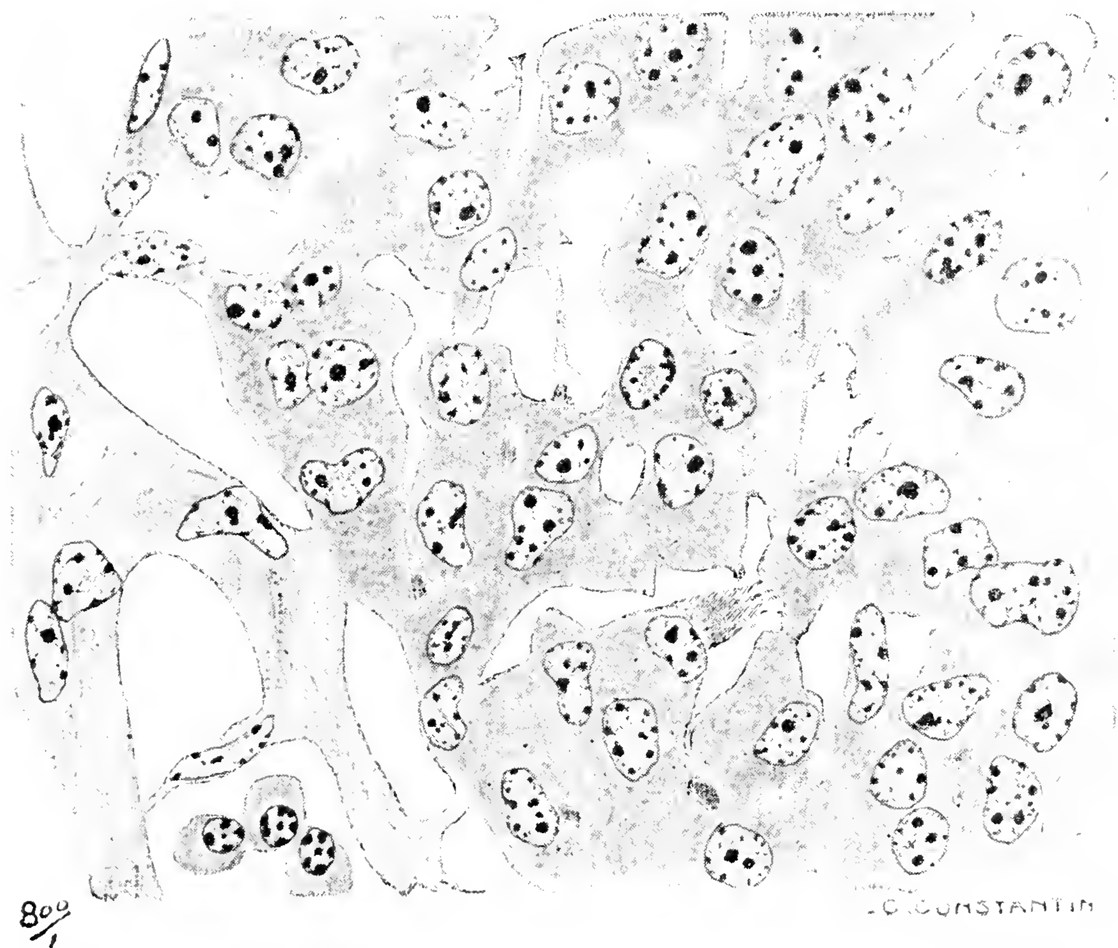


Fig. 19. — Fort grossissement d'un des points de la figure précédente (cadre voisin de la bronche).

pelet au milieu des masses vitreuses excrétées. Stoerk nie la présence de ces granulations intravasculaires et n'admet que la présence des substances amorphes. Ce sont, en effet, ces dernières qui constituent les flocons d'aspect vitreux observés dans les cavités endothéliales, et qui prennent une coloration brune plus ou moins accentuée après les fixations chromiques. Néanmoins nous tendons de plus en plus à admettre, à côté de la dissolution plasmatique des grains chromaffines dans les vacuoles, le passage dans les vaisseaux et dans les lacunes de formations figurées (granulations, enclaves, noyaux). On les retrouve très nettement chez le cheval, parfois dans les surrénales humaines (suppliciés); dans nos tumeurs, cette fonte holocrine est beaucoup plus marquée, ainsi qu'on pouvait s'y attendre.

Telle est la cytologie du paragangliome au début, tumeur essentiellement endocrine. Au cours de son évolution il peut être altéré par des hémorragies ou des dégénérescences variables qui n'ont rien de spécial au type envisagé.

Signalons toutefois la présence, dans une tumeur du cheval, d'une infiltration pigmentaire très marquée, intéressant à la fois les éléments épithéliaux et conjonctifs; nous nous proposons d'y revenir ultérieurement. On peut admettre comme vraisemblable le passage dans la circulation veineuse d'un excès d'adrénaline (ou de substances dérivées), en rapport avec l'hypertrophie réalisée et surtout l'intensité de la fonte holocrine des éléments glandulaires.

Mais cette notion de l'adrénalinémie au cours des paragangliomes devra s'appuyer sur des données physiologiques anatomo-pathologiques (recherches des lésions vasculaires sur les animaux ou les sujets porteurs de la tumeur) qui font jusqu'ici défaut. La valeur hypertensive des extraits de l'adénome médullaire, vérifiée par plusieurs auteurs, doit être considérée comme solidement établie. Il n'en est pas de même de celle des extraits corticaux à laquelle certains auteurs (Josué-Bloch) voudraient reconnaître la même signification, en vue de l'extension de certaines notions théoriques relatives à la genèse des états artérioscléreux.

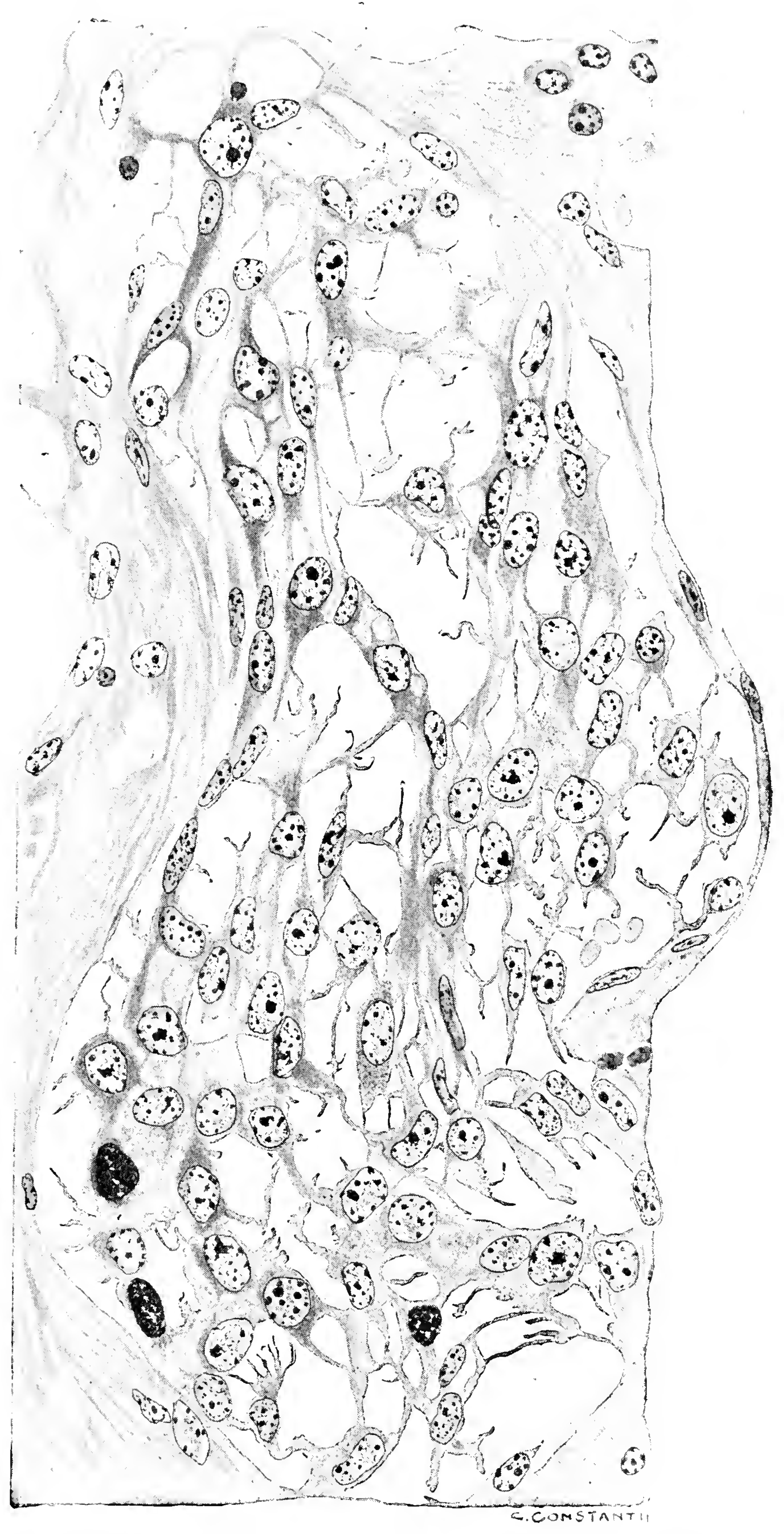


Fig. 20. — Fort grossissement de la partie centrale de la figure 18. Vacuolisation très marquée avec aspects fibrillaires.

CHAPITRE VI

LE PARAGANGLIOME MALIN

Nous aurons surtout en vue ici la tumeur d'Alfort, qui constitue un cas remarquable d'épithélioma à malignité primitive.

On sait combien il est difficile, dans l'étude des néoplasies glandulaires, de retrouver des éléments cellulaires aux degrés successifs des lésions, pour remonter jusqu'au stade originel. Cette difficulté est évidemment inhérente au caractère transitoire de la déviation première du trophisme qui conduit au cancer : lorsqu'on examine une tumeur, les lésions se trouvent généralement bien au delà de leur premier stade. La tumeur qui nous a été remise, à Alfort, avait dû présenter une malignité singulièrement précoce puisque la majeure partie de la substance médullaire était intacte alors que les métastases constituaient déjà de volumineux noyaux dans les ganglions et les viscères (1). Son étude nous a laissé l'impression d'une morphologie néoplasique, naissant d'une façon diffuse en des points variables de la médullaire et présentant partout les caractères histologiques de la malignité immédiate.

Les premiers stades s'effectuent, les uns au niveau des cordons chromaffines, les autres, au niveau des travées syncytiales.

a) Dans certaines zones de la substance médullaire dont la configuration générale n'est pas modifiée, des cordons épithéliaux apparaissent légèrement déformés, mais toujours enve-

(1) Les fragments de cette tumeur fixés au formol au 1/10 ne permettaient pas la recherche de la chromaffinité.

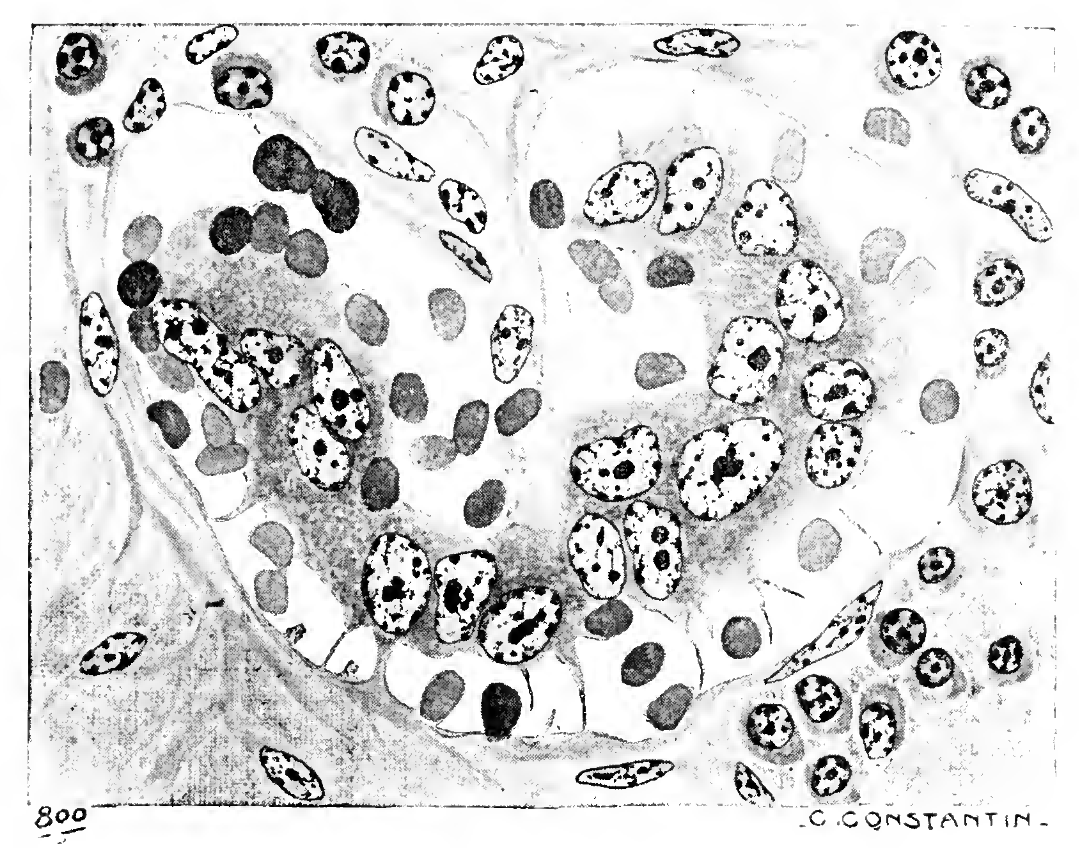


Fig. 21. — Fort grossissement d'un autre point de la figure 18.

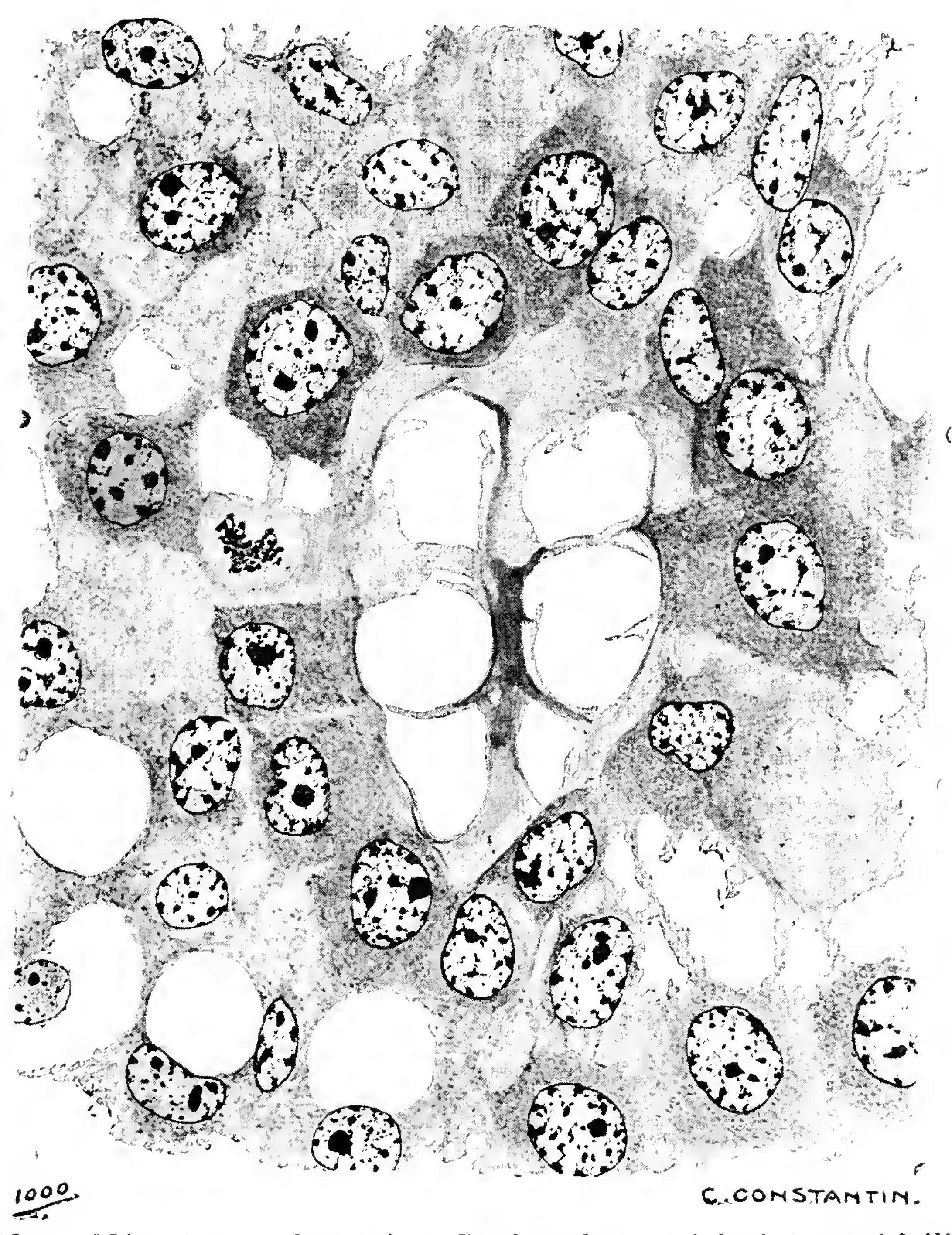


Fig. 22. — Métastase pulmonaire. Genèse des cavités intra-épithéliales.

loppés dans leur gaine conjonctive régulière. Ils ont perdu leurs grains et leurs vacuoles et montrent, dans un cytoplasme dense, des noyaux nombreux, parfois déformés et même lobés, généralement pourvus d'un nucléole central volumineux. Ces variations nucléaires, qui sont bien différentes des variations habituelles de la chromaticité du paraganglion, constituent un élément assez sûr du diagnostic histologique de la malignité.

b) Ailleurs, l'évolution maligne semble avoir affecté les petits nids alvéolaires syncytiaux que nous avons décrits précédemment dans le paragangliome au début, et qui se clivaient normalement par amitose. Les modifications nucléaires se retrouvent ici particulièrement nettes, en raison de la forme régulièrement ovoïde et des dimensions restreintes que présentent primitivement les noyaux.

Ces premiers stades sont parfois localisés à une partie de certains cordons centrés par les capillaires : une moitié du revêtement offre la forme allongée des cellules à adrénaline alors que, sur la partie opposée, une véritable hernie néoplasique est déjà constituée. Insistons sur ce fait que, dans cette recherche des zones de l'épithélioma au début, une grande circonspection est de rigueur : il peut, en effet, arriver qu'un noyau néoplasique constitué essaime, par sa périphérie, des boyaux sinueux ou allongés qui, en suivant les cavités endothéliales, se substituent aux cordons ou travées épithéliales normales, et en imposent pour une morphologie néoplasique constituée sur place. Dans le même ordre de faits, on peut observer, dans certaines lacunes axiales de faible volume, un groupement cellulaire épithéliomateux provenant d'une migration, et occupant toute la lumière de la lacune, en rapport de contiguïté avec les cellules glandulaires intactes du revêtement épithélial.

Quoi qu'il en soit, nés des cordons glandulaires ou des boyaux syncytiaux, les groupements de la tumeur présentent d'abord de faibles dimensions et offrent une tendance à l'accroissement et à la fusion plutôt qu'à la fragmentation. Ainsi se constituent des massifs volumineux, de forme arrondie, ovoïde ou allongée, qui refoulent les cordons et les axes conjonctivo-vasculaires du voisinage et s'en entourent comme d'une capsule. Il serait sans intérêt de décrire les multiples variations de formes de ces

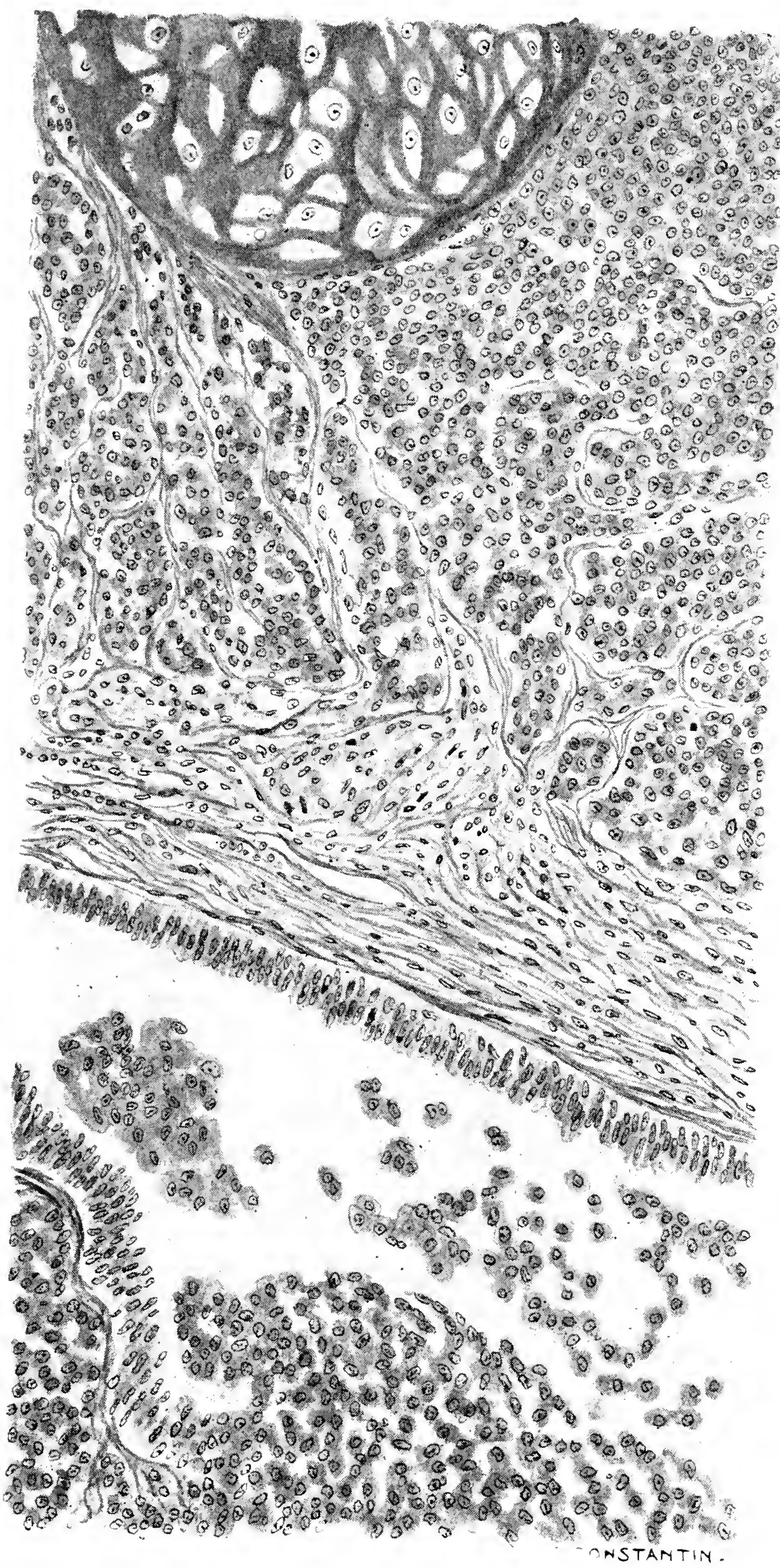


FIG. 23. — Métastase pulmonaire. Envahissement d'une cavité bronchique. A la partie supérieure de la figure : nodule cartilagineux bronchique.

groupements cellulaires dans lesquels rien ne rappelle la configuration normale de la glande. Entre eux s'interposent des lames connectives, généralement amincies, et étirées, semble-t-il, comme si elles avaient eu peine à suivre la prolifération rapide des massifs épithéliaux. Les karyokinèses, avec leurs diverses modalités dégénératives, sont très fréquentes et siègent à tous les niveaux. Ces masses essaiment, par leur périphérie, des nodules secondaires, plus nombreux ici que dans la plupart des tumeurs glandulaires, en raison sans doute de la multiplicité des cavités vasculaires béantes qu'elles trouvent à leur voisinage et dans lesquelles elles s'insinuent en se laminant ou s'effilochant de façon variable. Ce processus explique, en particulier, la diffusion rapide de la néoplasie au cortex, alors qu'une bonne partie de la médullaire restée intacte, n'est pas encore envahie, ni même refoulée. Les cloisons conjonctivo-élastiques, qui enveloppent la périphérie des massifs épithéliaux, se laissent distendre et rompre sous la poussée des masses cellulaires qui entrent alors en anastomose les unes avec les autres. En ces points, tout vestige de la configuration normale de la médullaire fait défaut; le stroma devient fusiforme et s'épaissit, et la physionomie de la tumeur endocrine, se dégradant progressivement, passe aux dispositions banales des carcinomes glandulaires (fig. 8, 9, 10, 11, 14).

Néanmoins, sous ces irrégularités de forme, les formations épithéliales continuent de montrer longtemps, à l'examen cytologique, un ensemble de caractères communs, véritable air de famille, qui se retrouvera jusque dans les métastases.

1° La tendance au syncytium s'observe encore, mais avec une grande inégalité. Lorsque les cellules ont des limites définies, polygonales ou ovoïdes et assez étroitement juxtaposées, leurs noyaux sont hypochromatiques avec un ou deux nucléoles hypertrophiques. Lorsque les limites cellulaires se confondent, la tendance à la vacuolisation est nettement accusée et peut donner lieu à de véritables dispositions fibrillaires (fig. 20);

2° Les cavités intra-épithéliales, correspondant aux lacunes axiales, et que nous avons décrites précédemment dans le paragangliome bénin, se retrouvent ici, mais avec une plus grande irrégularité dans leur forme, leur revêtement et leur contenu.

La figure 22 montre, au niveau d'une métastase pulmonaire,

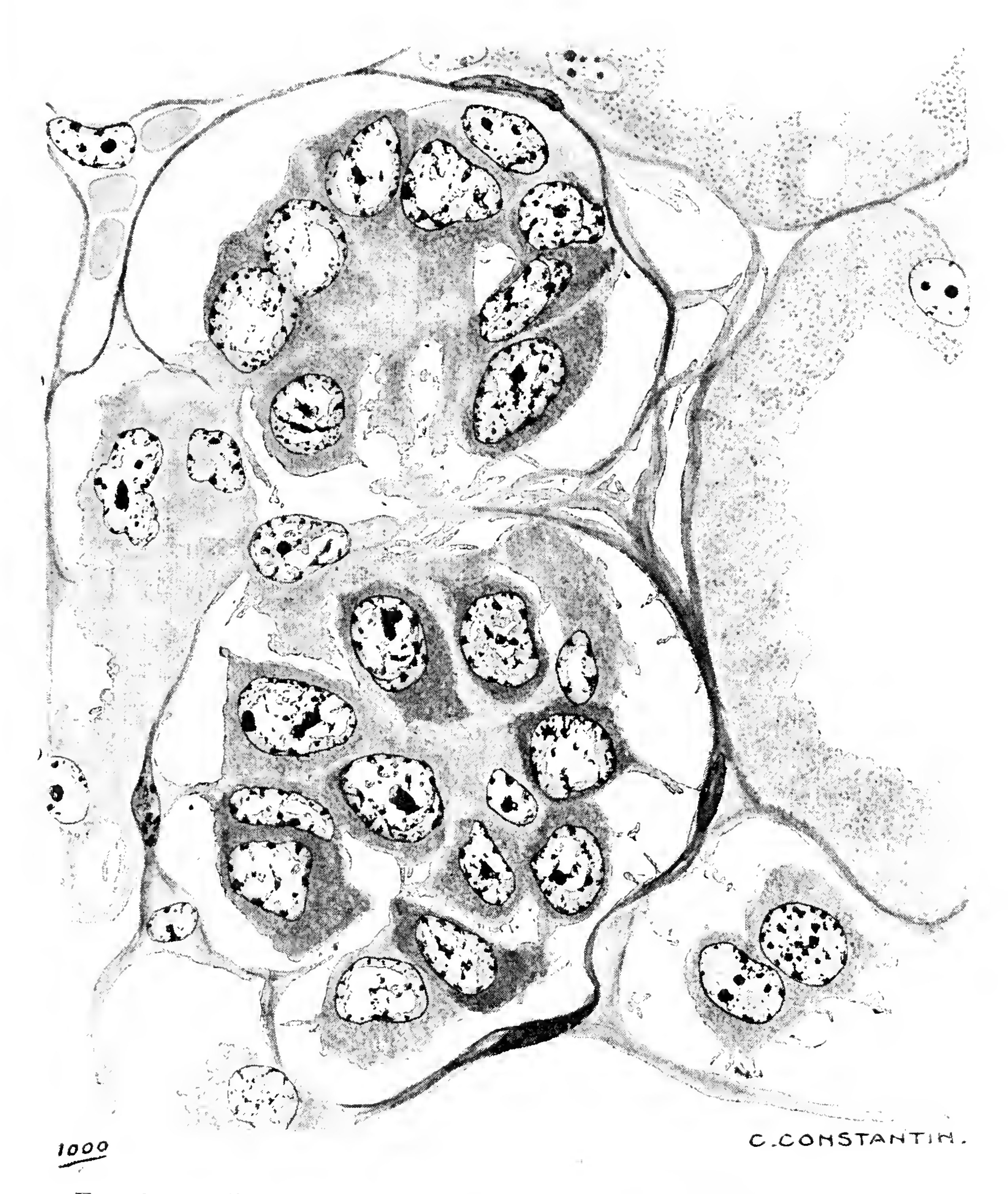


Fig. 24. — Paragangliome malin. Cheval. Métastase rénale. (Formol, hématoxyline ferrique, Van Gieson.)

A droite et en haut : tubes rénaux en cytolyse.

un aspect de ces néo-cavités, qui pourraient paraître purement dégénératives, si leur interprétation n'avait pas été donnée préalablement par leurs caractères plus réguliers dans le paragangliome bénin. Leur lumière montre des flocons d'aspect vitreux, ainsi que des cloisons effilées et irrégulières représentant les vestiges des corps cellulaires. C'est donc par une véritable fonte protoplasmique que ces cavités se constituent tout d'abord et cette origine rend compte de leur variabilité. En certains points, leur forme se régularise secondairement; et leur revêtement apparaît constitué par des cellules cubo-cylindriques. Ces cavités pseudo-glandulaires de l'épithélioma paraganglionnaire pourraient être confondues avec celles qu'on observe dans d'autres tumeurs glandulaires, et nous croyons devoir souligner éventuellement cette difficulté de diagnostic à propos d'une tumeur très intéressante décrite par Pepere, et que cet auteur a voulu considérer comme d'origine surrénale.

Il s'agissait d'un néoplasme hépatique qui s'était accompagné de métastases multiples et offrait, à la coupe, des cavités d'apparence glandulaire (fig. 26). La grande obligeance de l'auteur nous a permis d'étudier les pièces histologiques de cette tumeur que Pepere, après une étude critique très serrée, rattache à une inclusion intrahépatique de germes surrénaux aberrants (substance médullaire). Nous devons avouer que notre impression a été plutôt celle d'une néoplasie primitive du foie du genre hépatome. Il nous a semblé que les cavités intra-épithéliales, au niveau desquelles l'auteur aurait d'ailleurs retrouvé par places un revêtement endothélial, étaient beaucoup plus régulières primitivement que celles de notre paragangliome malin qui se constituent par fonte protoplasmique diffuse.

L'évolution du paragangliome malin peut être altérée, ainsi qu'on l'observe dans tous les épithéliomes glandulaires, par des facteurs secondaires.

Les lésions dégénératives sont particulièrement marquées au centre des volumineuses masses épithéliales dont la vascularisation et le trophisme sont évidemment précaires. Les aspects périthéliaux nous ont paru assez rares dans la tumeur d'Alfort. Enfin, dans les parties les plus anciennes de la tumeur, où l'organisation du stroma fibroïde était plus avancée qu'ailleurs,



Fig. 25. — Paragangliome malin. Cheval. Métastase dans un nerf du plexus rénal.

on constatait les aspects banaux de la dissémination carcinomateuse (fig. 8, 9, 10, 11).

Signalons, à ce propos, la fréquence des dispositions alvéolaires pseudo-endothéliales analogues à celles qui, dans l'anatomo-pathologie du cancer, en imposèrent longtemps pour une invasion des voies lymphatiques; elles sont représentées dans la figure 11 et se retrouvent, avec des caractères identiques, dans les métastases. Leur abondance, dans le noyau surrénal, c'est-à-dire dans une région où les voies lymphatiques sont des plus douteuses à l'état normal, suffit à contredire formellement l'hypothèse de cavités lymphatiques vraies.

Les ramifications de la veine centrale surrénale refoulées et comprimées par le développement des masses néoplasiques, montrent, en de nombreux points, des amas de cellules néoplasiques embolisées, qui rendent compte de l'invasion à distance de la substance corticale ainsi que des métastases viscérales (poumon et rein).

La substance corticale est à la fois refoulée et dissociée par des noyaux de dimensions très variables; les figures 12 et 13 montrent ces diverses modalités.

En outre, mais en un point seulement, la masse du paragangliome, ayant refoulé les vestiges de la substance corticale, entre en contact avec la capsule conjonctive des surrénales au niveau de la glomérulée (fig. 16).

Signalons ici une infiltration d'éléments pigmentaires interstitiels, autour des cordons du cortex, en voie de régression.

Métastases.

Parmi les fragments prélevés, nous avons retrouvé des noyaux métastatiques développés au niveau du rein, des poumons et d'un ganglion lombaire.

Noyau rénal.

La configuration générale est celle de la tumeur primitive : des massifs épithéliaux, épais, cloisonnés par de minces lames connectives, égrènent à leur périphérie des boyaux ou amas cellulaires de volume réduit qui se substituent aux tubes

C. CONSTANTIN.

Fig. 26. — Cavités intra-épithéliales de la tumeur de Pepere, considérée par cet auteur comme une néoplasie intrahépatique de germes aberrants de la substance médullaire des surrénales.

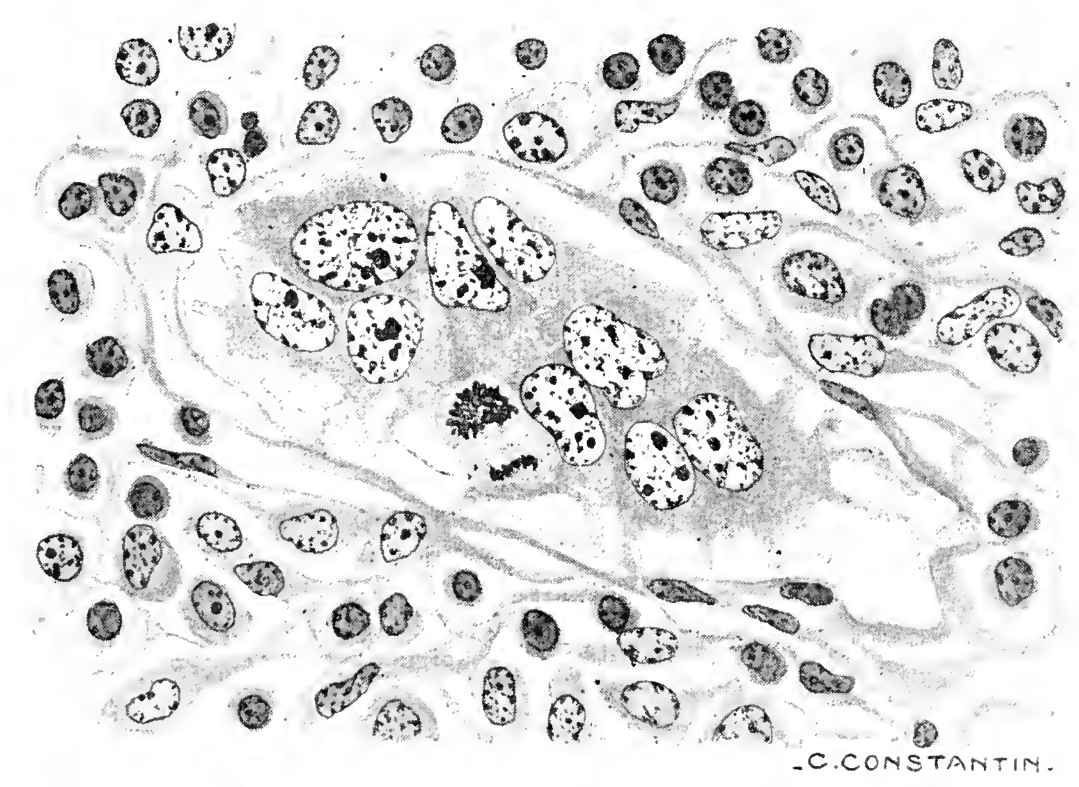


Fig. 27. — Métastase ganglionnaire de la tumeur d'Alfort.

rénaux refoulés et atrophiés (fig. 24). En certains points, l'examen au faible grossissement serait insuffisant pour distinguer des tubes rénaux les boyaux du paragangliome; ces derniers peuvent offrir, en effet, une surface de section régulièrement ovoïde ou sphérique et affecter, avec le tissu conjonctif péritubulaire, des rapports identiques, comme s'il y avait eu substitution des seconds aux premiers sans effraction des loges conjonctives.

Les caractères cytologiques du cytoplasme et des noyaux sont identiques à ceux décrits précédemment, et les dispositions syncytiales avec vacuolisation sont très nombreuses. On retrouve aussi les cavités intra-épithéliales. A noter la présence de petits groupements néoplasiques à l'intérieur de filets nerveux intrarénaux (fig. 25).

Noyau pulmonaire.

(Fig. 18, 19, 20, 21, 22, 23.)

Il se distingue du précédent par son polymorphisme, qui dépasse même celui de la tumeur primitive. On a aussi l'impression que la métastase pulmonaire, dont l'organisation conjonctivo-vasculaire est très avancée, a peut-être précédé chronologiquement l'envahissement du rein. Les fragments examinés montrent des éléments à topographie variable, sous-pleurale, péribronchique ou périvasculaire. L'intégrité histologique de l'endothélium de la plèvre viscérale a pu être vérifiée sur l'un des fragments. Le caractère commun à tous ces noyaux pulmonaires est l'extrême abondance d'un stroma conjonctif de type adulte fibroïde. En un point, nous avons pu observer une ébauche de tissu endocrine rappelant la médullaire surrénale (cordons épithéliaux séparés par des capillaires veineux de calibre irrégulier).

La tendance évolutive caractéristique du paragangliome (cavités intra-épithéliales avec produits de sécrétions d'aspect vitreux) est plus nette encore que dans le noyau surrénal primitif. On retrouve de même la tendance à la vacuolisation et aux syncytiums à cytoplasme dense.

En beaucoup de points, ces aspects caractéristiques ont fait place à des dispositions beaucoup plus banales, telles qu'on les

rencontre dans les carcinomes les plus divers : travées épithéliomateuses, irrégulièrement ramifiées dans un stroma épaissi, nappes et traînées cellulaires diffuses ; dispositions périthéliales. Les alvéoles pulmonaires se reconnaissent simplement refoulés par places. Les diverses ramifications bronchiques sont généralement refoulées ; mais en quelques points (fig. 23) le revêtement bronchique s'est rompu et a livré passage à de véritables hernies néoplasiques. Les nodules cartilagineux bronchiques résistent plus longtemps à l'envahissement : on en trouve dont le périchondre est resté normal bien qu'entouré par de véritables manchons de cellules néoplasiques (fig. 23).

A l'intérieur des branches de l'artère pulmonaire, nous avons trouvé, en plusieurs points, des embolies néoplasiques, rendant bien compte de l'origine veineuse prédominante ou exclusive de cette métastase.

Ganglions lombaires.

Le seul ganglion que nous ayons pu examiner était complètement envahi par les nodules secondaires ; en un point seulement, nous avons pu retrouver l'architecture normale du ganglion avec ses centres folliculaires et ses sinus. Les figures 17 et 27 montrent des cavités lymphatiques vraies renfermant un embolus néoplasique. Les amas épithéliaux affectent un polymorphisme qui, sans atteindre celui du noyau pulmonaire, est beaucoup plus marqué que dans le rein.

Les cavités intra-épithéliales y sont assez nombreuses, l'une d'entre elles s'offre un revêtement de cellules cubiques et cylindriques dont la régularité l'emporte certainement sur tous les aspects analogues que nous avons pu observer dans la tumeur primitive.

CONCLUSIONS

1° Le paragangliome est moins fréquent que le cortico-surrénalome, et sa malignité est exceptionnelle; nous en apportons le premier cas avec examen histologique;

2° Le paragangliome au début permet, chez le cheval, d'assister à la genèse de cavités intra-épithéliales, d'aspect glandulaire, offrant des dimensions souvent considérables et destinées à évoluer de façon variable : elles représentent des cavités axiales (paraganglion surrénal normal) agrandies et déformées. La multiplicité et la précocité de ces stades évolutifs confirment et complètent les vues de Laguesse sur la valeur des vésicules closes, comme caractère morphologique général des épithéliums endocrines.

Un autre caractère important est la présence d'amas ou boyaux cellulaires à cytoplasme généralement dense, et à petits noyaux, rappelant les petites cellules chromophobes de l'hypophyse. Ces nids cellulaires plurinucléés représentent une forme de rénovation et de multiplication cellulaire.

La sécrétion holocrine, déjà marquée à l'état normal, en particulier dans la médullaire du cheval, est très fréquente dans la tumeur au début : les noyaux disparaissent en beaucoup de points par pycnose au moment où débute l'excrétion intravacuolaire des grains chromaffines.

Il y aura lieu de vérifier, par des données physiologiques et anatomo-pathologiques, l'adrénalinémie probable dans le paragangliome, au début.

3° L'histogénèse du paragangliome malin et de ses métastases nous a permis de retrouver, avec une grande netteté, les cavités pseudo-glandulaires et les dispositions syncytiales.

Les métastases viscérales paraissent s'effectuer principalement par voie veineuse.

LES VACCINATIONS ANTIRABIQUES

A L'INSTITUT PASTEUR EN 1916

par JULES VIALA, Préparateur au service antirabique.

Pendant l'année 1916, 1.391 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur de Paris : 6 sont mortes de la rage, soit une proportion brute de 0,43 p. 100.

Mais 2 personnes ont été prises de rage au cours du traitement; 1 personne est morte moins de 15 jours après la fin du traitement; ces 3 personnes doivent donc être défalquées.

La statistique rectifiée s'établit donc ainsi :

Personnes traitées	1.388
Morts de rage	3
Mortalité p. 100.	0,21

Le tableau ci-dessous indique les résultats des vaccinations depuis l'origine.

ANNÉE	PERSONNES traitées	MORTS	MORTALITÉ p. 100	ANNÉE	PERSONNES traitées	MORTS	MORTALITÉ p. 100
1886	2.671	25	0,94	1902	1.005	2	0,18
1887	2.770	14	0,79	1903	628	2	0,32
1888	1.622	9	0,55	1904	755	3	0,39
1889	1.830	7	0,38	1905	721	3	0,41
1890	1.540	5	0,32	1906	772	1	0,43
1891	1.559	4	0,25	1907	786	3	0,38
1892	1.790	4	0,22	1908	524	1	0,19
1893	1.648	6	0,36	1909	467	1	0,21
1894	1 387	7	0,50	1910	401	0	0,00
1895	1.520	5	0,38	1911	341	1	0,29
1896	1.308	4	0,30	1912	395	0	0,00
1897	1.529	6	0,39	1913	330	0	0,00
1898	1.465	3	0,20	1914	373	0	0,00
1899	1.614	4	0,25	1915	654	1	0,15
1900	1.420	4	0,28	1916	1.388	3	0,21
1901	1.321	5	0,38				

*
* *

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories correspondant aux tableaux suivants :

Catégorie A. — La rage de l'animal mordeur a été expérimen-

talement constatée par le développement de la maladie chez des animaux mordus par lui ou inoculés avec son bulbe.

Catégorie B. — La rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

Catégorie C. — L'animal mordeur est suspect de rage.

Nous donnons ci-après la répartition entre ces catégories des personnes traitées en 1916.

ANNÉE 1916	MORSURES à la tête			MORSURES aux mains			MORSURES aux membres			TOTAUX		
	Traités	Morts	Mortalité p. °/o	Traités	Morts	Mortalité p. °/o	Traités	Morts	Mortalité p. °/o	Traités	Morts	Mortalité p. °/o
Catégorie A. .	11	0	0	124	3	2,4	53	0	0	188	3	1,59
Catégorie B. .	57	0	0	292	0	0	309	0	0	658	0	0
Catégorie C. .	25	0	0	212	0	0	305	0	0	542	0	0
	93	0	0	628	3	0,48	667	0	0	1.388	3	0,21

Au point de vue de leur nationalité, les personnes traitées se répartissent de la façon suivante :

France	1.389	personnes.
Algérie	3	—
Belgique.	16	—

Répartition par départements des 1.389 Français traités.

Ain	1
Aisne	14
Allier	5
Aube	6
Aude.	2
Aveyron	9
Bouches-du-Rhône	5
Calvados	23
Cantal.	9
Charente	1
Cher.	3
Corrèze	16
Creuse.	12
Côtes-du-Nord	68
Dordogne	3
Doubs	9
Eure	6
Eure-et-Loir.	2
Finistère	30
Gard	2
Garonne (Haute-)	4
Gironde	1

Gers	1	Pas-de-Calais	156
Hérault	1	Puy-de-Dôme	8
Ille-et-Vilaine	36	Pyrénées (Basses-)	2
Indre	2	Rhin (Haut-)	34
Indre-et-Loire	22	Rhône	3
Loire	5	Saône (Haute-)	11
Loiret	2	Sarthe	13
Loire-Inférieure	39	Sèvres (Deux-)	6
Loir-et-Cher	3	Seine-Inférieure	15
Lot	61	Seine-et-Marne	2
Manche	20	Seine-et-Oise	29
Maine-et-Loire	28	Seine	171
Mayenne	3	Somme	116
Marne	24	Tarn	3
Marne (Haute-)	12	Tarn-et-Garonne	4
Meurthe-et-Moselle	10	Vaucluse	3
Meuse	82	Vendée	8
Morbihan	35	Vienne	17
Nord	56	Vienne (Haute-)	32
Oise	34	Vosges	18
Orne	9	Yonne	2

Personnes traitées, mortes de la rage après le traitement.

Francesco, née Grassa, trente ans, Paris (XVIe).
Mordue le 16 novembre, au pouce gauche qui a saigné; elle a été traitée du 19 novembre au 6 décembre.

Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez elle le 19 janvier; elle est morte le 23 janvier.

Le bulbe du chien mordeur inoculé à des animaux, par M. Vasseur, vétérinaire de la Fourrière, a donné la rage le 16e jour.

Hoyer (Louis), dix-sept ans, à Boulogne-sur-Mer (Pas-de-Calais).
Mordu le 22 janvier, à l'annulaire de la main droite; deux morsures pénétrantes qui ont saigné.
Traité du 25 janvier au 29 février.

Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez lui le 8 avril; il meurt le 10 avril.

Le bulbe du chien mordeur inoculé à des animaux a donné la rage le 35e jour.

Delassus, née Defiez, cinquante-trois ans, demeurant à Béthune (Pas-de-Calais).

Mordue le 16 août. Une morsure pénétrante au pouce droit; deux morsures, éminence hypothénar et bord interne de la main gauche, qui ont été cautérisées avec la teinture d'iode.

Traitée du 20 août au 6 septembre.

Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez elle le 19 octobre. Morte le 24 octobre.

Chat reconnu enragé par M. Bonnière, vétérinaire, à Béthune. Ce chat avait mordu deux autres personnes qui ont subi le traitement et qui se portent bien.

Les animaux inoculés avec le bulbe de l'animal mordeur le 20 août ont pris la rage le 3 novembre.

Personnes prises de rage en cours de traitement.

Carn (Anne-Marie), dix-neuf ans, demeurant à Plougasnou (Finistère).

Mordue le 18 décembre, au nez. Trois morsures pénétrantes qui ont saigné, non cautérisées.

Traitée du 20 décembre au 7 janvier.

Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez elle le 8 janvier. Morte à l'hôpital Pasteur, le 12 janvier.

Chien reconnu enragé, par M. Baron, vétérinaire à Morlaix.

Kratz (Charles), trente-cinq ans, graveur, demeurant à Paris (X^{e} arr.).

Mordu le 22 mai; deux morsures pénétrantes à la lèvre supérieure, une autre à l'aile droite du nez, qui ont saigné et qui ont été lavées à l'eau oxygénée.

Traité du 21 mai au 14 juin.

Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez lui le 14 juin. Il succombe le 18 juin.

Le chien a été reconnu enragé par M. Ducourneau, vétérinaire, à Paris.

Personne traitée, morte de la rage moins de 15 jours après le traitement.

Williart (Léopold), cinquante ans, demeurant à Bacouël (Oise).
Mordu le 7 août, au médius gauche; deux morsures pénétrantes, qui ont saigné, non cautérisées.
Traité du 13 août au 30 août.

Les premiers symptômes se sont manifestés chez lui le 8 septembre. Il meurt le 12 septembre.

Le chien mordeur a été reconnu enragé par M. Fortene, vétérinaire de l'armée.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

Ouvrage reçu par les ANNALES :

Laboratory Manual
in
GENERAL MICROBIOLOGY

Prepared by the
Laboratory of Bacteriology, Hygiene and Pathology
Michigan Agricultural College.

FIRST EDITION

NEW-YORK : John Wiley & Sons, Inc.
LONDON : Chapman & Hall, Limited.
1916

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXXI. — 1917. Août. — N° 8.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX



PARIS

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, Boulevard Saint-Germain (6e).

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : 18 francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : 20 francs.

SOMMAIRE DU N° 8





BULLETIN

DE LA

Société de Pathologie exotique

Siège de la Société : Institut Pasteur, Paris

Paraît 10 fois par an, 15 jours après chaque séance qui a lieu le 2e mercredi du mois, sauf en août et septembre.

Le volume de 1915, qui atteint 800 pages, avec figures dans le texte et planches hors texte, ne le cède en rien, malgré les circonstances, à ceux des années précédentes.

Prix de l'Abonnement :

France : 18 fr. — Union postale : 20 fr.

P. LEQUEUX*, Ingénieur des Arts et Manufactures

Maison WIESNEGG, 64, rue Gay-Lussac, Paris

Fournisseur de l'Institut Pasteur et de la Faculté de médecine de Paris

STÉRILISATEURS, ÉTUVES, APPAREILS DE DÉSINFECTION

Installations de Laboratoires de bactériologie.

Exposition univ. Paris 1900 : DEUX GRANDS PRIX

MICROSCOPES NACHET

Magasins et Ateliers : **17, rue Saint-Séverin, PARIS.**

GRAND PRIX (Exposition de Bruxelles 1910)

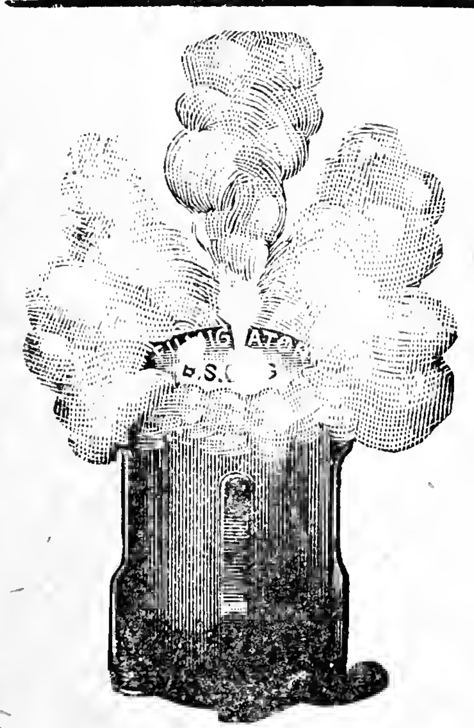
FUMIGATOR GONIN

PROCÉDÉ DE DÉSINFECTION A L'ALDÉHYDE FORMIQUE

Breveté S. G. D. G.

Approuvé par le Conseil supérieur d'Hygiène publique de France	Autorisé par Décision ministérielle du 9 février 1904

Le **FUMIGATOR** est le plus *simple* et le plus *discret* des procédés de désinfection



Fumigator n° 4 au 5°.

MODE D'EMPLOI

Cuber la pièce à désinfecter. Se munir d'autant de fumigators n° 4 qu'il y a de fois 20$^{m^3}$. Pour les fractions supplémentaires, on prend des n°s 3.

Chaque fumigator est livré avec son support et ne nécessite aucun accessoire supplémentaire.

PRIX :

Le FUMIGATOR n° 3, au FORMOL, pour 15$^{m^3}$. 2 fr. 75
— n° 4, — pour 20$^{m^3}$. 3 fr. 30

N.-B. — Chaque fumigator est accompagné d'un certificat de désinfection.



Adresser les commandes aux

ÉTABLISSEMENTS GONIN

60, rue Saussure, PARIS (17°). — *Téléph.*: 517-23.

SAVONS ANTISEPTIQUES VIGIER

HYGIÉNIQUES ET MÉDICAMENTEUX

Pharmacie · 12, boulevard Bonne-Nouvelle, PARIS

SAVONS doux, surgras au Cacao, à la Glycérine (*pour le visage, la poitrine, le cou,* etc.). Panama, Panama et Goudron, Naphtol soufré, Goudron et Naphtol *pour les soins de la chevelure, de la barbe, pellicules, séborrhée, alopécie, maladies cutanées,* Sublimé, Phéniqué, Boriqué, Créoline, Résorcine, Salicylé, au Solvéol, Thymol (*accouchements, anthrax, rougeole, scarlatine, variole,* etc.), à l'Ichthyol, Panama et Ichthyol, Sulfureux, à l'huile de Cade, Goudron, Boraté, au Tannoforme contre *les sueurs,* B. du Pérou et Pétrole, *gale, parasites.*

SAVON DENTIFRICE VIGIER

LE MEILLEUR DENTIFRICE ANTISEPTIQUE

pour l'entretien des dents, gencives, muqueuses. Il prévient les accidents buccaux. Prix de la boîte porcelaine : **3 fr**

31e ANNÉE AOUT 1917 N° 8

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

ÉTUDES SUR LE BACILLE D'EBERTH ET LES BACILLES PARATYPHIQUES

(PREMIER MÉMOIRE)

CARACTÈRES GÉNÉRAUX DE 70 ÉCHANTILLONS

par M. NICOLLE, Mlle A. RAPHAEL et E. DEBAINS.

Nous nous sommes proposé de reprendre, aussi complètement que possible, l'histoire des germes désignés sous les noms de bacille d'Eberth et bacilles paratyphiques, c'est-à-dire de bien connaître leurs diverses particularités et d'établir la signification respective de celles-ci au double point de vue théorique et pratique.

Lorsqu'on étudie une bactérie, il convient de diviser ses caractères en plusieurs groupes. Le meilleur mode de division, dicté du reste par les nécessités techniques, nous semble être le suivant.

1. *Caractères généraux.* — On appellera ainsi (faute de mieux) l'ensemble des caractères morphologiques, des caractères de culture et des caractères biologiques. Il est urgent de définir exactement ces propriétés, sous peine de rendre stérile toute recherche ultérieure. Malgré sa réputation d'aridité, l'examen des caractères généraux demeure plein d'intérêt

quand on s'attache à lui donner de plus en plus de précision et d'étendue.

2. *Caractères antigènes.* — Une bactérie constitue, selon nous, non seulement une « mosaïque » de propriétés, mais encore une « mosaïque » de substances particulières, que l'on dénomme substances antigènes (abréviativement : antigènes). Elles engendrent, par immunisation, des agglutinines (éventuellement, des précipitines) et des lysines, qui sont à leur égard des réactifs d'élection. Ce qui caractérise chaque microbe, c'est le mode de distribution des divers antigènes, avec dominance habituelle de l'un d'entre eux.

Beaucoup de méthodes d'identification sont basées sur des « réponses » antigènes : agglutination (éventuellement, précipitation) et lyse *in vitro* ; immunité et hypersensibilité *in vivo* ; lyse *in vivo*.

3. *Virulence.* — Rappelons sa seule définition acceptable : végétabilité *in vivo*. — L'étude de ses modalités s'impose et pour elle-même et comme base des réactions « anti », pratiquées chez l'animal.

4. *Fonction toxigène.* — Elle réside dans la sécrétion de poisons spécifiques, qui jouissent du pouvoir « anti », comme les substances dont il a été question plus haut ; comme, aussi, les enzymes, grâce auxquels les bactéries exercent leurs actions chimiques.

Les enzymes bactériens possèdent, semble-t-il, un trop faible caractère « anti » pour que l'on puisse discerner clairement, avec les méthodes actuelles, si des diastases, accomplissant le même travail chez des germes différents, conservent cependant leur spécificité distincte (comme cela est le cas avec le lab et la cynarase, substances beaucoup plus antigènes). Il y aurait lieu de reprendre la question, qui intéresse et la théorie et la pratique.

Nous réserverons, *conventionnellement*, le nom d'antigènes aux constituants spécifiques des microbes ; ailleurs, nous dirons : toxines ou enzymes (bien qu'il s'agisse encore d'antigènes, répétons-le).

Ces préliminaires établis, voici l'ordre que nous suivrons dans notre travail : *origine des échantillons étudiés* ; *caractères généraux du bacille d'Eberth et des bacilles paratyphiques, d'après les auteurs* ; *technique* employée par nous ; *résultats de nos recherches* ; *conclusions*.

ORIGINE DES ÉCHANTILLONS ÉTUDIÉS

ORGANISME HUMAIN.

La plupart des germes proviennent d'hémocultures, pratiquées au cours d'affections fébriles de nature habituellement typhoïde.

Échantillons : 1, 2, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 37, 48, 52, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 63, 66, 69, 70, 71, 97, 124, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136.

Un échantillon a été isolé de liquide céphalo-rachien : n° 36.
Un autre, de pus articulaire : n° 95.
Trois, de la rate, *post mortem* : n°s 38, 39 et 64.
Deux, de la bile, *post mortem* également : n°s 67 et 68.

ORGANISME ANIMAL.

Souris. — Infection septicémique : n°s 3 et 4.
Rat. — Virus Danysz : n° 80.
Cheval. — Épididymite : n° 115.
Perruche. — Psittacose (Nocard) : n° 19.

Mentionnons, enfin, l'échantillon Gärtner (n° 65), dont nous ignorons la provenance exacte.

Un certain nombre de germes ont été isolés par nous ; les autres sont dus à l'obligeance de MM. Legroux, Cotoni, Dumas, Armand-Delille, Sarrailhé, Clunet, Netter, Vallée, Hardouin, que nous ne saurions trop remercier. Nous remercions aussi notre ami Legroux de nous avoir fourni beaucoup de ces « petits » renseignements, qui rendent de si grands services.

CARACTÈRES GÉNÉRAUX DU BACILLE D'EBERTH ET DES BACILLES PARATYPHIQUES, D'APRÈS LES AUTEURS

Nous nous contenterons de rappeler les points essentiels.

Caractères morphologiques.

Bacilles « gram-négatifs », asporulés et mobiles (habituellement, très mobiles). Ces propriétés étant communes aux trois groupes de microbes envisagés, ne peuvent qu'aider à les distinguer d'autres familles bactériennes.

Caractères de culture.

L'étude des cultures, véritable morphologie macroscopique, comporte avant tout l'examen suivi des développements en bouillon, sur (et en) gélatine et gélose, sur pomme de terre.

Bouillon. — Trouble d'opacité variable, plus faible ordinairement dans le cas du bacille paratyphique A. — Voile rare avec le bacille typhique, inconstant avec le bacille paratyphique B (pour le bacille paratyphique A, les auteurs sont peu explicites).

Gélatine. — Les colonies profondes n'offrent rien de spécial; les superficielles revêtent, plus ou moins strictement, l'un des aspects suivants, communs aux trois groupes de microbes étudiés.

Type typhique. — Colonies minces, transparentes, finement dentelées, froncées à leur surface.

Type colibacillaire. — Colonies épaisses, assez opaques, grossièrement découpées, à facettes, surmontées d'un bouton.

Type hémisphérique. — Petite pastille porcelainée; surface lisse et bords nets. Apparence réalisée plus souvent par le bacille paratyphique B que par les deux autres groupes de germes, mais inconstante.

Gélose. — (Colonies superficielles). Les types typhique et colibacillaire sont moins nets ici que sur gélatine; le type hémisphérique coexiste volontiers avec une consistance muqueuse, assez caractéristique du bacille paratyphique B.

Pomme de terre. — Tous les intermédiaires entre la « traînée de limace » du bacille d'Eberth et le dépôt abondant et brunâtre du colibacille.

Donc : point de critérium « culturel », permettant de distinguer nos trois types microbiens entre eux et même de les séparer d'autres bactéries (bacille de Shiga, bacille de Flexner, colibacille...).

Caractères biologiques.

Caractères négatifs, communs aux trois groupes étudiés.

Absence de protéolyse, de fermentation du lactose (et de coagulation du lait), de production d'indol. Ces caractères négatifs ont une *importance capitale.*

Caractères, tantôt positifs tantôt négatifs, suivant le groupe étudié.

Réduction du rouge neutre, fermentation du glucose, production d'H^2S, alcalinisation « de retour » en petit-lait tournesolé.

Bacille typhique. — Ne réduit pas le rouge neutre; ne fermente pas le glucose; produit H^2S; rougit le petit-lait tournesolé et le laisse tel quel.

Bacille paratyphique A. — Réduit le rouge neutre; fermente le glucose; ne produit pas H^2S; rougit le petit-lait tournesolé et le laisse tel quel.

Bacille paratyphique B. — Réduit le rouge neutre; fermente le glucose: produit H^2S; rougit d'abord le petit-lait, puis le fait virer au bleu.

Sauf dans de rares travaux (Sarrailhé et Clunet, notamment), on passe à peu près sous silence les échantillons irréguliers et leurs anomalies ne sont l'objet d'aucune discussion.

TECHNIQUE SUIVIE

Nous sommes toujours partis des colonies *isolées* et rigoureusement *pures*, au point de vue macroscopique et microscopique. Nos diverses souches ont été conservées en gélatine, à la glacière et rajeunies le moins souvent possible. Pour les besoins courants, on se contentait de cultures sur gélose-Martin gardées dans l'armoire.

Conservation des souches à la glacière. — Une partie de culture en bouillon Martin (24 heures — 37°) était additionnée de deux parties de gélatine au bouillon-Martin. Après mélange, on scellait le tube au chalumeau.

N'ayant rien observé de nouveau, dans le domaine des caractères morphologiques et des caractères de culture, *nous n'envisagerons que les caractères biologiques et la technique correspondante.* Celle-ci comprend la préparation des milieux suivants.

Liquide Fränkel. — Solution nutritive, utilisée jadis pour distinguer le bacille typhique du colibacille. Nous avons trouvé avantageux d'y recourir, pour l'étude comparée de nos trois groupes microbiens. Elle permet d'apprécier les exigences alimentaires des différents échantillons.

Gélose au sous-acétate de plomb. — Milieu classique, pour déceler la production d'H^2S.

Gélose au rouge neutre. — Excellent milieu, pour mettre en évidence le pouvoir réducteur des microbes.

Comme la gélose au sous-acétate de plomb, la gélose au rouge neutre doit être répartie en culots et non pas inclinée. Il s'agit, ici et là, d'obtenir des « réactions anaérobies » par des « ensemencements profonds ».

Eau peptonée et glucosée. — La fermentation du sucre de raisin se manifeste nettement lorsque, sur le milieu que contient le tube à essai, on renverse une petite éprouvette, remplie du même liquide. Les bulles gazeuses y montent progressivement.

Eau peptonée et lactosée. — Dispositif identique. Ce milieu permet de distinguer nos trois types microbiens des divers ferments du lactose et avant tout du colibacille.

Petit-lait tournesolé. — Milieu classique, pour déceler les réactions du bacille paratyphique B.

Lait tournesolé. — Nous avons employé systématiquement ce liquide, qui permet de séparer nos trois groupes microbiens des bactéries lactiques et de mesurer leur pouvoir alcaligène respectif.

Eau peptonée. — Indispensable, pour différencier nos germes des microbes qui forment de l'indol, notamment du colibacille.

Voici, maintenant, dans ses détails, le mode de préparation des milieux qui viennent d'être indiqués.

LIQUIDE FRÄNKEL.

Chlorure de sodium	5	grammes.
Phosphate bipotassique	2	—
Asparagine	4	—
Lactate d'ammoniaque	6	—
Eau distillée	1.000	—

Alcaliniser légèrement (tournesol). Porter 15 minutes à 115°. Filtrer. Répartir. Porter 15 minutes à 110°.

On ensemence avec une goutte de culture en bouillon-Martin; les deux passages suivants se font également avec une goutte (on ne repique pas, naturellement, dans le cas de culture négative).

GÉLOSE AU SOUS-ACÉTATE DE PLOMB.

Viande de bœuf	500 grammes.
Eau distillée	1.000 —

Faire macérer 12 heures. Bouillir 15 minutes (petit feu). Laisser refroidir, écumer et filtrer sur Chardin. Ajouter 10 grammes de peptone Defresne. Titrer l'acidité, en prélevant 10 cent. cubes de liquide, puis ramener cette acidité au taux de 0 gr. 225 de SO^4H^2 par litre. Ajouter 5 grammes de gélose p. 1.000 cent. cubes. Porter 15 minutes à 118°. Filtrer. Répartir. Porter 15 minutes à 112°. Lors de l'emploi, ajouter, pour chaque tube, contenant 6-8 cent. cubes de gélose, 0 c.c. 1 d'une solution au 10e, dans l'eau distillée, de sous-acétate de plomb liquide du Codex (le réactif plombique sera stérilisé immédiatement avant l'emploi).

[*Titrage de l'acidité, etc....* — On prélève, avons-nous vu, 10 cent. cubes de liquide. On ajoute 2 gouttes de phtaléine (alcoolique : 1/30) et on verse une solution de soude décinormale jusqu'à coloration rosée faible. Supposons qu'il ait fallu verser 2 c.c. 2. On ajoutera 2 c.c. 2 — 0 c.c. 5 par 10 cent. cubes, soit 17 cent. cubes de soude normale pour 1 litre de milieu (0 c.c. 5 de soude décinormale par 10 cent. cubes correspond à 0 gr. 225 de SO^4H^2 pour un litre)].

On ensemence largement, en partant d'une culture sur gélose-Martin inclinée. Le fil de platine chargé doit être introduit entre la paroi du tube et le milieu au plomb; il sera dirigé de manière à faire un trait net.

GÉLOSE AU ROUGE NEUTRE.

Se prépare, en gros, comme la gélose au plomb, mais avec les différences suivantes.

1° Pour la réaction, soustraire 1,5 au lieu de 0,5 par 10 cent. cubes de milieu.

2° Après filtration de la gélose, ajouter, dans le filtrat provenant d'un litre, 5 cent. cubes de la solution suivante :

Rouge neutre	0 c.c. 1
Eau distillée.	20 cent. cubes.

Puis, répartir et stériliser 15 minutes à 112°.

On ensemence largement, par piqûre centrale, en partant d'une culture sur gélose-Martin inclinée.

EAU PEPTONÉE ET SUCRÉE.

Peptone Defresne	25 grammes.
Glucose ou lactose.	10 —
Soude normale.	20 cent. cubes.
Eau distillée.	1.000 —

Verser environ 4 cent. cubes par *tube à essai*. Remplir totalement des *petits tubes* (faisant fonction d'éprouvettes), les retourner et les introduire dans les grands. Porter 15 minutes à 110°.

On ensemence au fil de platine, en partant d'une culture sur gélose-Martin.

Petit-lait tournesolé.

Ecrémer le lait. Porter à 40°. Ajouter un excès de présure en pastilles (par exemple, pour 1.000 cent. cubes, le 6e d'une pastille). Laisser coaguler, pendant 1-2 heures, après avoir éteint. Fendre le caillot (gros morceaux). Jeter sur linge fin. Alcaliniser le filtrat avec de la soude, jusqu'au rouge franc de la phtaléine. Ajouter 2 grammes de $CaCl^2$ cristallisé par litre. Porter 15 minutes à 110°. Filtrer sur papier, jusqu'à ce que le liquide passe clair. Vérifier que la réaction est bonne (*violet foncé au tournesol*). Ajouter une solution aqueuse de tournesol (2 p. 100) jusqu'à ce que la teinte soit assez nourrie (prélever, de temps en temps, un peu de liquide, le verser dans un tube à essai et bien examiner sa nuance). Filtrer sur bougie. Répartir. Eprouver (étuve deux jours, puis température ordinaire 8 jours). Capuchonner.

On ensemence avec une goutte de culture en bouillon-Martin.

Lait tournesolé.

Prendre du lait *très frais et non écrémé*. Le répartir par 8 cent. cubes environ. Stériliser 15 minutes à 110°, en ayant soin de ne pas trop tasser les tubes. Au moment de l'emploi, ajouter la teinture aqueuse de tournesol à 2 p. 100 (6-8 gouttes dans chaque tube).

On ensemence avec une goutte de culture en bouillon-Martin.

Eau peptonée.

Peptone Defresne	25	grammes.
Soude normale.	20	cent. cubes.
Eau distillée	1.000	—

Verser environ 4 cent. cubes par tube. Porter 15 minutes à 110°.

On ensemence avec une goutte de culture en bouillon-Martin.

RÉSULTATS DE NOS RECHERCHES

Nous étudierons d'abord les aspects divers fournis par nos échantillons, dans les milieux dont la préparation vient d'être indiquée. Puis, nous montrerons la façon suivant laquelle ces aspects se groupent, selon que l'on est en présence du bacille d'Eberth, du bacille paratyphique A ou du bacille paratyphique B *typiques*. Enfin, nous examinerons une série de germes que leurs caractères anormaux ne permettent pas de classer parmi les trois formes « canoniques ».

Aspects fournis par nos échantillons.

Liquide Fränkel.

Culture toujours positive dans le premier tube; inconstante, dans le second; toujours positive dans le troisième, lorsqu'elle l'a été dans le second

(ce troisième tube devient donc, désormais, inutile). Abondance très variable ; voile exceptionnel.

En résumé : possibilité ou impossibilité d'obtenir un développement dans le second tube de milieu Fränkel : voilà le fait essentiel.

Gélose au sous-acétate de plomb.

Résultats, après 24 heures. — Quatre éventualités : 1° trait blanc (dépôt microbien), au niveau de la strie d'ensemencement; 2° petite ligne grisâtre; 3° ligne noire, 3-4 fois plus large que la strie d'ensemencement et tranchant sur la couleur, non modifiée, du milieu; 4° ligne noire et teinte gris brun (plus ou moins foncée) du milieu.

Résultats, passé 24 heures. — 1° : petite ligne grise; 2° : ligne grise nette; 3° et 4° : pas de changement.

Donc : formation d'H^2S tantôt nulle (ou pratiquement nulle) après 24 heures, tantôt marquée (voire très marquée).

Gélose au rouge neutre.

Résultats, après 48 heures. — Deux éventualités. 1° Le milieu garde sa couleur. Toutefois, dans le cas de culture superficielle abondante, la gélose sur laquelle repose immédiatement le dépôt microbien prend éventuellement une teinte orangée sans fluorescence (ce qui ne comporte aucun sens diagnostique). 2° Virage et fluorescence du milieu (jaune par transparence, verdâtre par réflexion). Le virage débute au fond du tube et s'étend vers la surface, qu'il n'atteint point d'ordinaire. Le phénomène peut, d'ailleurs, être complet (extension à tout le culot, en 24-48 heures) ou incomplet (parfois limité au fond du tube).

Résultats, après plus de 48 heures. — 1° Le milieu continue à garder sa teinte initiale. 2° Etat stationnaire. Quand on emploie la gélose *glucosée* au rouge neutre, celle-ci se recolore de haut en bas. Le glucose, en fermentant, produit des acides, qui favorisent l'oxydation du leuco-dérivé formé. [Pareillement, lorsqu'on réduit, par l'hydrosulfite de soude, le rouge neutre additionné d'acide lactique, il se recolore plus vite que si on l'avait additionné d'alcali.]

Donc : virage et fluorescence, présents ou absents.

Eau peptonée et glucosée.

[*Examen quotidien, pendant 5 jours.*]

Deux éventualités. 1° Pas de dégagement gazeux. 2° Dégagement gazeux. Presque toujours net après 24 heures et terminé après 3-4 jours. Intensité variable : tantôt limité à la concavité de l'éprouvette, tantôt étendu soit au tiers, soit à la moitié de celle-ci.

Donc : fermentation ou non.

Eau peptonée et lactosée.

Jamais de fermentation.

Petit-lait tournesolé.

[*Examen quotidien, pendant* 3 *jours*.]

Couleur du milieu. — Trois éventualités. 1° Acidification légère, puis retour à la teinte sensible (exceptionnellement, réduction). 2° Acidification légère persistante (parfois tout s'arrête à la teinte sensible). 3° Virage au bleu, incomplètement précédé d'acidification, inconstamment suivi de réduction. Dans quelques cas, acidification légère, immédiatement suivie de réduction (décoloration), laquelle masque le virage au bleu.

Formation d'un voile bleu. — Trois éventualités. 1° Cette formation n'a pas lieu. 2° Elle est précoce (24-48 heures). 3° Elle est tardive (3ᵉ jour — si l'on conservait les cultures plus longtemps, on verrait que le voile peut même n'apparaître que du 5ᵉ au 8ᵉ jour).

Donc : acidification, soit persistante soit transitoire; dans ce dernier cas, retour à la teinte sensible ou formation d'un voile bleu.

Lait tournesolé.

[*Examen quotidien, pendant* 20 *jours*.]

Couleur du milieu. — Deux éventualités. 1° Acidification légère, avec ou sans retour à la teinte sensible. 2° Acidification très légère, avec alcalinisation consécutive, généralement précédée d'une phase de réduction, au cours de laquelle le lait prend le ton du vieil ivoire. L'alcalinisation peut être très prononcée; on voit alors le milieu passer progressivement du bleu de lin au bleu de cobalt et arriver, entre le 15ᵉ et le 20ᵉ jour, au bleu d'outremer.

Bleuissement de la surface. — Deux éventualités. 1° Le phénomène n'a pas lieu. 2° Il apparaît dès le lendemain de l'ensemencement (et ne s'observe d'ailleurs qu'avec le lait non écrémé). On voit la surface de la crème prendre une couleur bleue intense, qui s'étend quelquefois à la partie supérieure du milieu, dont le reste demeure encore légèrement acide. Le bleuissement persiste plusieurs jours et peut se combiner aux diverses nuances du liquide (lilas, bleu de lin, ivoire).

Coagulation. — *Toujours absente.*

Donc : acidification, soit persistante soit transitoire; dans ce dernier cas, simple retour à la teinte sensible ou alcalinisation consécutive — bleuissement de la surface ou absence de bleuissement.

Eau peptonée.

Recherche de l'indol, après 2 et 8 jours, par les méthodes de Salkowski ou d'Ehrlich (voir, pour la technique, E. Debains : « Sur les bacilles du groupe Flexner-Y. » Ces *Annales*, février 1917).

Il n'apparaît jamais d'indol.

Caractères des types normaux.

(*Bacille d'Eberth, bacille paratyphique A, bacille paratyphique B.*)

Nous sommes d'accord avec les auteurs, en ce qui concerne les *caractères négatifs* communs aux trois types normaux (absence de fermentation du lactose et de coagulation du lait; absence de production d'indol) et les *caractères, tantôt positifs, tantôt négatifs*, selon le type envisagé. On a vu, pour ces derniers, que nous nous étions efforcés de les analyser de très près et de les compléter (étude systématique des cultures dans le lait et emploi du liquide Fränkel, notamment).

Le *tableau* ci-joint résume les particularités essentielles du bacille d'Eberth et des bacilles paratyphiques « légitimes ».

Un mot, concernant l'*abondance respective des trois types microbiens*, cultivés sur des surfaces égales et dans des conditions identiques.

Si l'on prend, comme unité, le bacille paratyphique A (moyenne de tous les échantillons), le bacille typhique (moyenne) montre la valeur 1,16 et le bacille paratyphique B (moyenne) la valeur 1,41 (2,75 pour le colibacille — moyenne de nombreux spécimens typiques).

Il est bon de connaître ces différences moyennes (et les différences individuelles), non seulement au point de vue théorique, mais encore pour l'obtention de masses notables de germes (immunisation, réactions antigènes *in vitro*...).

Rappelons aussi l'*odeur*, fétide et tenace, qui semble propre aux cultures *du bacille paratyphique* B, mais qui peut faire défaut.

Caractères des échantillons anormaux.

Ils se répartissent en 8 groupes. Pour chacun d'eux, nous indiquerons d'abord sa *nature apparente*, c'est-à-dire la place qu'il occuperait si on voulait le faire rentrer « de force » dans un des types « canoniques » — puis, nous discuterons sa *nature réelle*, tantôt plus ou moins probable tantôt simplement possible, selon les cas.

	LIQUIDE FRÄNKEL	GÉLOSE AU SOUS-ACÉTATE DE PLOMB	GÉLOSE AU ROUGE NEUTRE	EAU PEPTONÉE ET GLUCOSÉE	PETIT-LAIT TOURNESOLÉ	LAIT TOURNESOLÉ
Bacilles typhiques. — [Nos: 2, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 20, 30, 35, 36, 37, 38, 48, 58, 61, 63, 68.]	*Absence de passages.*	*Strie noire.* Milieu non modifié en général.	*Pas de virage. Pas de fluorescence.*	*Pas de gaz.*	*Acidification légère, puis retour à la teinte sensible. Pas de voile.* (Dans un seul cas, nº 11, réduction.)	*Acidification légère, puis retour à la teinte sensible. Pas de bleuissement de la surface.*
Bacilles paratyphiques A. — [Nos : 22, 23, 56, 59, 66, 67, 69, 70, 71.]	*Absence de passages.*	Strie blanche ou strie grise étroite, après 24 heures. *Donc : production d'H^2S nulle ou pratiquement nulle.*	*Virage et fluorescence* constants, mais réaction souvent incomplète après 48 heures.	*Gaz.*	*Acidification légère, persistante ou suivie d'un retour à la teinte sensible.* Parfois, tout s'arrête rapidement à cette teinte. *Pas de voile.*	*Acidification légère, s'écartant peu de la teinte sensible. Pas de bleuissement de la surface.*
Bacilles paratyphiques B. — [Nos : 1, 3, 4, 8, 14, 15, 19, 25, 26, 31, 32, 57, 60, 64, 65, 80.]	*Passages.*	*Strie noire* intense. Généralement diffusion dans le milieu.	*Virage et fluorescence* constants ; d'ordinaire complets après 48 heures.	*Gaz.*	*Virage au bleu,* inconstamment précédé d'acidification, inconstamment suivi de réduction. Parfois, acidification légère, immédiatement suivie de réduction. *Voile bleu,* après 24-48 heures.	*Acidification légère peu durable; puis virage au bleu* de plus en plus intense. Ce virage est précédé, dans la majorité des cas, d'une phase de réduction (décoloration du milieu). *Bleuissement de la surface.*

Rappelons qu'*on ne se place, ici, qu'au seul point de vue des caractères généraux* (et, spécialement, des caractères biologiques).

Groupe 1.

(Échantillons 39 et 97.)

Nature apparente. — Bacilles typhiques ne produisant pas d'H^2S.

Nature réelle. — Indéterminée. Il peut s'agir de bacilles d'Eberth, ayant perdu la propriété en question; laquelle constitue, malheureusement, l'unique caractère biologique positif de l'organisme typhique. Il peut s'agir aussi de germes ne l'ayant jamais possédée et dont la place, dans le monde des bactéries, ne saurait être fixée que par la connaissance approfondie de leurs autres particularités.

Il serait indiqué de rechercher si, soit spontanément (et d'une façon inopinée), soit par des cultures suivies au sein de milieux favorables (c'est-à-dire contenant du soufre ou riches en peptone), le caractère absent est susceptible de reparaître. On pourrait, également, par des isolements successifs, tenter de rencontrer quelques rares individus capables d'avoir éventuellement conservé la faculté abolie chez la masse des autres.

Groupe 2.

(Échantillons 52 et 124.)

Nature apparente. — Bacilles typhiques formant un voile dans le petit-lait.

Nature réelle. — Il n'est pas exceptionnel de voir le bacille d'Eberth former un voile *tardif* (après 3 jours) dans le petit-lait. L'anomalie, observée ici, ne portant que sur la précocité de cette formation, nous estimons difficile de ne pas considérer les deux échantillons indiqués comme de véritables organismes typhiques.

Groupe 3.

(Échantillon 6.)

Nature apparente. — Bacille typhique formant un voile dans le petit-lait, bleuissant le lait et faisant des passages en liquide Fränkel.

Nature réelle. — Cet échantillon offre vraiment trop de caractères surajoutés pour qu'on puisse l'identifier avec le bacille d'Eberth, tel que nous l'avons défini. L'étude de ses autres caractères peut seule permettre de lui assigner une place exacte.

Groupe 4.

(Échantillons 7 et 115.)

Nature apparente. — Bacilles paratyphiques A bleuissant le lait et faisant des passages en liquide Fränkel.

Nature réelle. — Mêmes réflexions que pour le groupe 3.

Groupe 5.

(Échantillons 126 ..... 136.)

Nature apparente. — Bacilles paratyphiques A produisant H^2S.

Nature réelle. — Par la production d'H^2S, ces échantillons s'éloignent beaucoup des bacilles paratyphiques A légitimes; malgré la production d'H^2S, on ne saurait penser à les classer parmi les bacilles d'Eberth ou les paratyphiques B. Donc, ils constituent un type spécial, que ses seuls caractères biologiques sont incapables à définir.

Nos amis, Sarrailhé et Clunet (1), auxquels nous devons ces curieux échantillons, en avaient d'ailleurs très bien apprécié la physionomie particulière.

Groupe 6.

(Échantillon 95.)

Nature apparente. — Bacille paratyphique B ne produisant pas d'H^2S.

Nature réelle. — Le cas de ce germe diffère de celui des représentants du groupe 1 en ce que la production d'H^2S ne constitue pas le seul caractère positif du bacille paratyphique B. Nous jugeons donc assez probable que cet échan-

(1) Victime de son dévouement, notre ami Clunet vient d'être emporté, à Jassy, par le typhus exanthématique. Nous ne saurions dire combien sa disparition nous afflige.

tillon ait été un bacille paratyphique B légitime et qu'il puisse le redevenir éventuellement.

Groupe 7.

(Échantillons 24, 33 et 34.)

Nature apparente. — Bacilles paratyphiques B bleuissant le lait sans y former de voile et ne faisant point de passages en liquide Fränkel.

Nature réelle. — On est porté à admettre que ces germes ont été des bacilles paratyphiques B authentiques et sont susceptibles de l'être encore un jour. *Mais il faudrait le démontrer.*

Groupe 8.

(Échantillons 27, 28 et 29.)

Nature apparente. — Bacilles paratyphiques B ne bleuissant pas le lait, n'y formant pas de voile et ne faisant point de passages en liquide Fränkel.

Nature réelle. — Mêmes réflexions que pour le groupe précédent.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Parmi les organismes que nous avons étudiés dans ce premier mémoire, *au point de vue exclusif de leurs caractères généraux*, un certain nombre doivent être considérés, sans hésitation, comme des bacilles typhiques ou des bacilles paratyphiques; la nature exacte des autres reste soit indéterminée, soit discutable. Elle deviendrait moins problématique si l'on pouvait répondre, dès maintenant, à la question suivante : les bacilles typhique et paratyphiques représentent-ils des variétés d'une seule espèce ou des espèces différentes?

L'étude isolée des caractères généraux ne permet pas de résoudre le problème. Il est d'ailleurs rare, dans le monde des bactéries, que l'on rencontre, parmi les seuls caractères généraux, soit un élément spécifique en lui-même, soit plusieurs propriétés peu communes, dont la réunion impose l'idée d'espèce.

ÉTUDES
SUR LE BACILLE D'EBERTH
ET LES BACILLES PARATYPHIQUES

(DEUXIÈME MÉMOIRE)

AGGLUTINATION DE 54 ÉCHANTILLONS EN PRÉSENCE DE 54 SÉRUMS DE LAPINS IMMUNISÉS

par M. NICOLLE, E. DEBAINS et Mlle A. RAPHAEL.

Dans le mémoire précédent, nous avons examiné tout ce qui concerne les « caractères généraux » du bacille d'Eberth et des bacilles paratyphiques. Le travail actuel ne représente, lui, qu'une partie de nos recherches sur les « caractères antigènes » de ces microbes.

On s'est proposé, ici, de connaître le pouvoir agglutinogène et l'agglutinabilité (directs et croisés) de 54 échantillons, en choisissant le lapin comme animal fournisseur d'anticorps. Parmi les 54 échantillons, 45 sont absolument typiques, quant aux caractères généraux; ils se décomposent ainsi : 20 bacilles d'Eberth (en abrégé, bacilles τ ou simplement τ), 9 bacilles paratyphiques A (bacilles α ou α) et 16 bacilles paratyphiques B (bacilles β ou β) — les autres montrent certaines anomalies déjà signalées et seront envisagés séparément (bien que figurant dans le tableau comme τ, α ou β, pour ne pas compliquer celui-ci).

L' « *analyse antigène* » des microbes qui font l'objet de nos travaux forme le pendant de leur « analyse biologique », abordée précédemment. Elle *nécessite l'emploi de deux méthodes successives*.

Tout d'abord, afin de discerner les « gros faits », il faut préparer et étudier un nombre assez considérable de sérums

agglutinants (l'agglutination représentant le premier phénomène à utiliser en analyse antigène). Le lapin se trouve alors indiqué et une immunisation rapide fournit des sérums suffisamment actifs pour les constatations d'ensemble. Certains de ces sérums, offrant des caractères de spécificité parfaite ou d'absence totale de spécificité, « signalent », *ipso facto*, les germes correspondants, qui seront préférés lors de l'immunisation des chevaux.

La seconde méthode repose sur l'emploi d'agglutinines puissantes, fournies par les chevaux fortement immunisés. Ces agglutinines constituent les réactifs les plus précieux de l'analyse antigène, comme on le verra dans le mémoire suivant.

Nous étudierons, successivement : l'*immunisation des lapins*, la *préparation des suspensions microbiennes* (etc...), les *résultats* de nos expériences (*échantillons normaux*), les *résultats* de nos expériences (*échantillons anormaux*) — et nous formulerons, en terminant, quelques *conclusions générales*.

[Tous les germes mentionnés ici figurent dans notre travail initial.]

IMMUNISATION DES LAPINS

On s'est servi, exclusivement, de *microbes tués à l'alcool-éther et détoxiqués à la pipéridine*.

On ensemençait, habituellement, pour chaque type, 10 boîtes de Roux contenant de la gélose-pomme de terre (*Ces Annales*, juillet 1909).

Après 24 heures (37°) : émulsion des dépôts microbiens en eau physiologique, mélange et turbinage énergique (centrifuge de Jouan). On traitait ensuite les culots par un grand excès d'alcool-éther (aa) et, le lendemain, on les desséchait, vers 40°, dans l'appareil à air chaud de Jouan. Le poids de substance bacillaire, ainsi obtenue, diffère beaucoup selon la nature du microbe envisagé et, pour un même type, selon l'individu choisi.

Comme fournisseurs de sérums, nous nous sommes adressés à des *lapins vigoureux, de* 2.500 *grammes environ*. Chaque sujet recevait deux fois, en pleins muscles gastrocnémiens, 0,1 gr. de « germes alcool-éther » détoxiqués. Un intervalle de 7 jours séparait les injections; on saignait le sujet 7 jours après la seconde.

La dose de 0,1 gramme, reconnue par nous la meilleure,

nécessite (sous peine de tuer les animaux) une détoxication variable, pratiquement réduite à l'un des deux types suivants :

Détoxication faible (conventionnellement : type α). — On émulsionne 0,1 gr. de « germes alcool-éther » secs avec 1 cent. cube d'eau physiologique ; on ajoute 1 cent. cube de pipéridine au 1/50e ; on mêle intimement et on plonge, pendant 5 minutes, dans l'eau bouillante.

Détoxication forte (conventionnellement ; type β). — Même technique, en utilisant ici la pipéridine au 1/25e.

Le traitement par la pipéridine (inspiré des anciennes recherches de l'un de nous et de Frouin) altère, sans conteste, les propriétés antigènes, mais infiniment moins que la toxicité. Toutes les fois que nous l'avons pu, nous nous sommes bornés, naturellement, au type α pour les deux injections ; ailleurs, on a dû adopter les combinaisons αβ (ou βα) et même ββ. La comparabilité des recherches se ressent peu de ces variantes, comme le prouve l'existence de très bons sérums, chez les sujets soumis au traitement ββ et de très mauvais, chez ceux qui ont reçu deux fois le mélange α.

On nous fera observer, selon toute vraisemblance, que, vis-à-vis du même germe, divers lapins, pris « dans le tas », doivent réagir diversement et qu'en utilisant un seul lapin par germe nous pratiquons systématiquement le sophisme *ab uno disce omnes*. Nous répondrons que, dans les expériences assez nombreuses où plusieurs lapins ont été traités de façon identique, leurs sérums se sont montrés pratiquement équivalents.

PRÉPARATION DES ÉMULSIONS MICROBIENNES

Les germes, cultivés sur gélose-pomme de terre (sans eau de condensation), en partant d'une semence jeune sur gélose-Martin, étaient suspendus, après 24 heures d'étuve, dans l'eau physiologique, à raison d'un centigramme de corps bacillaires par 20 cent. cubes de solution saline (NaCl 1 p. 100).

TECHNIQUE DE L'AGGLUTINATION

On ajoutait, pour 1 cent. cube d'émulsion : 1/100 (*limite inférieure, que nous avons cru devoir adopter*), 1/200, 1/500, 1/1.000, 1/2.000... de cent. cube de sérum (soit : 10^{-2}, $0{,}5.10^{-2}$.

nécessite (sous peine de tuer les animaux) une détoxication variable, pratiquement réduite à l'un des deux types suivants :

Détoxication faible (conventionnellement : type α). — On émulsionne 0,1 gr. de « germes alcool-éther » secs avec 1 cent. cube d'eau physiologique ; on ajoute 1 cent. cube de pipéridine au 1/50e ; on mêle intimement et on plonge, pendant 5 minutes, dans l'eau bouillante.

Détoxication forte (conventionnellement; type β). — Même technique, en utilisant ici la pipéridine au 1/25e.

Le traitement par la pipéridine (inspiré des anciennes recherches de l'un de nous et de Frouin) altère, sans conteste, les propriétés antigènes, mais infiniment moins que la toxicité. Toutes les fois que nous l'avons pu, nous nous sommes bornés, naturellement, au type α pour les deux injections; ailleurs, on a dû adopter les combinaisons αβ (ou βα) et même ββ. La comparabilité des recherches se ressent peu de ces variantes, comme le prouve l'existence de très bons sérums, chez les sujets soumis au traitement ββ et de très mauvais, chez ceux qui ont reçu deux fois le mélange α.

On nous fera observer, selon toute vraisemblance, que, vis-à-vis du même germe, divers lapins, pris « dans le tas », doivent réagir diversement et qu'en utilisant un seul lapin par germe nous pratiquons systématiquement le sophisme *ab uno disce omnes*. Nous répondrons que, dans les expériences assez nombreuses où plusieurs lapins ont été traités de façon identique, leurs sérums se sont montrés pratiquement équivalents.

PRÉPARATION DES ÉMULSIONS MICROBIENNES

Les germes, cultivés sur gélose-pomme de terre (sans eau de condensation), en partant d'une semence jeune sur gélose-Martin, étaient suspendus, après 24 heures d'étuve, dans l'eau physiologique, à raison d'un centigramme de corps bacillaires par 20 cent. cubes de solution saline (NaCl 1 p. 100).

TECHNIQUE DE L'AGGLUTINATION

On ajoutait, pour 1 cent. cube d'émulsion : 1/100 (*limite inférieure, que nous avons cru devoir adopter*), 1/200, 1/500, 1/1.000, 1/2.000... de cent. cube de sérum (soit : 10^{-2}, $0,5.10^{-2}$.

	Bacilles Typhiques																						B. Paratyphiques A										Bacilles Paratyphiques B																					
	2	6	9	10	11	12	13	16	17	18	20	30	35	36	37	38	39	48	58	61	63	68	7	22	23	56	59	66	67	69	70	71	1	3	4	8	14	15	19	24	25	26	27	28	29	31	32	33	34	57	60	64	65	80
Sérums antityphiques																																																						
2	A	A	o	a	a	a	a	a	a	A	a	A	A	A	a	A	A	a	A	A	A	A	a	o	A	o	a	o	o	o	o	o	o	a	o	a	o	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	o	o	o	o	o	a
6	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
9	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	o	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	o	A	a	a	o	a	a	a	a	a	a	o	o	o	o	o	a	a	o
10	a	A	a	o	A	a	a	A	a	A	a	A	o	A	a	a	a	A	A	A	A	A	a	o	A	o	A	o	o	o	a	o	o	a	a	o	o	a	a	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
11	A	A	A	a	A	A	a	A	A	A	A	a	A	A	A	A	a	A	A	A	A	A	A	a	A	o	o	a	a	o	a	a	a	a	a	o	A	A	a	a	a	a	a	a	a	o	a	o	a	o	o	a	o	a
12	a	A	a	o	A	a	a	A	A	A	a	a	a	A	a	A	a	a	A	A	a	A	a	o	A	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	o	a	a	a	o	o	o	a	a	o	o	o	o	o	o	o	o	a	a
13	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	C	C	a	C	C	C	C	B	C	A	o	B	a	a	o	a	a	a	a	a	A	A	a	a	A	a	a	a	a	a	a	a	o	a	a	o	o	o	a	A	a
16	A	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	C	B	A	B	A	a	A	B	A	o	A	o	o	o	o	o	a	a	o	A	A	a	a	A	o	o	o	o	a	o	o	o	a	o	o	o	a	o	a	A
17	A	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	A	A	A	A	A	a	a	a	A	o	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	A
18	A	C	a	a	A	A	A	B	B	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	A	o	a	o	o	o	o	o	o	o	a	B	A	a	o	A	a	o	o	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	o
20	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	A	A	a	A	a	B	B	B	B	a	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	a	A	a	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	a	o	o	o	o	o	a	A
30	A	A	a	a	A	A	A	B	A	A	A	o	A	B	A	A	A	B	A	C	C	B	A	A	o	o	o	o	o	o	o	o	o	A	o	o	A	a	o	o	o	o	o	a	o	a	o	o	o	o	o	o	a	A
35	A	A	A	A	A	A	A	A	C	B	A	A	C	B	B	A	A	A	B	A	A	B	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	A
36	a	A	A	a	A	a	a	A	A	A	A	a	a	A	a	a	a	o	a	a	a	A	a	o	a	o	o	o	o	o	a	o	o	o	o	o	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	o
37	a	A	a	o	a	o	o	A	A	a	o	a	a	a	o	o	o	o	a	a	A	A	o	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
38	A	A	A	A	A	a	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	a	o	A	o	o	a	a	a	a	a	a	o	o	o	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
39	A	A	A	a	A	A	B	B	B	B	A	B	B	B	B	B	B	C	C	B	B	C	A	a	A	a	o	a	a	a	a	A	o	A	A	A	o	a	a	o	o	o	o	o	o	o	a	o	o	o	o	o	a	B
48	A	A	A	A	A	A	a	B	B	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	a	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
58	A	C	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A	A	B	B	B	A	B	a	a	A	o	o	a	a	a	a	A	a	o	o	o	a	A	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
61	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B	B	A	B	o	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	A	A	a	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	A
63	a	C	a	o	a	a	B	a	a	o	A	A	A	A	A	A	A	A	a	a	a	C	A	o	B	o	o	o	o	a	a	a	o	a	o	a	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	o
68	A	a	a	a	A	A	B	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	A	a	A	o	o	a	a	a	a	a	o	a	a	a	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a
S. antiparatyphiques A																																																						
7	a	A	o	a	a	a	a	A	A	A	a	a	A	a	o	o	a	a	a	A	A	A	a	A	a	a	a	A	A	A	A	A	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
22	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	A	B	A	a	a	A	A	A	A	A	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
23	o	A	o	o	o	o	a	o	a	a	a	o	a	a	a	o	a	o	a	a	a	A	A	A	A	a	a	a	A	a	a	a	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
56	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	A	a	o	o	a	a	a	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
59	o	a	o	A	a	a	a	A	a	a	A	o	A	a	a	a	a	a	A	a	a	A	a	a	A	a	A	A	A	A	A	A	a	o	o	o	o	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
66	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	A	a	a	a	a	A	A	A	A	A	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
67	o	A	a	a	a	a	a	A	a	A	a	a	A	a	a	a	A	A	A	A	a	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	a	a	o	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
69	o	A	a	a	a	o	a	A	a	A	a	A	A	A	A	a	a	A	A	A	A	A	a	a	a	a	o	A	A	A	A	A	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
70	o	A	o	o	a	a	a	A	a	A	a	a	a	A	a	a	a	a	a	A	a	A	a	a	a	a	o	a	A	A	A	A	a	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
71	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	a	o	a	A	o	o	a	o	o	a	a	a	a	a	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Sérums antiparatyphiques B																																																						
1	a	A	o	o	a	o	A	A	A	a	a	A	A	a	A	a	a	A	a	A	A	A	A	o	A	o	o	o	o	o	o	o	A	a	a	a	a	A	A	A	a	a	a	a	A	a	a	a	A	A	a	a	a	a
3	a	A	o	o	A	a	a	B	A	A	A	A	A	B	B	A	B	B	B	B	B	C	a	a	A	a	a	o	o	o	o	a	A	B	B	a	o	A	A	a	a	a	o	ŏ	a	o	a	o	a	A	a	a	a	B
4	a	A	a	o	a	a	B	B	A	A	a	A	A	A	A	a	a	A	A	A	A	C	o	o	a	o	o	o	o	o	a	a	a	B	B	o	o	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	B
8	a	A	o	a	o	o	a	B	A	A	A	a	a	A	A	a	a	A	A	A	A	A	a	o	a	a	a	A	A	A	A	A	B	a	a	B	B	B	A	B	B	B	B	B	B	B	B	A	B	B	B	B	a	A
14	a	A	A	a	A	A	a	B	B	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	A	a	A	o	o	a	a	a	a	a	a	a	a	a	A	A	a	o	o	o	o	o	a	o	o	a	o	o	o	o	a	a
15	o	B	o	o	o	o	o	a	a	a	o	a	a	a	a	a	a	o	a	a	a	A	a	A	a	a	a	A	A	A	A	a	a	ŏ	o	o	o	a	o	o	o	o	o	o	a	a	a	a	a	o	o	o	o	o
19	A	A	a	a	A	A	B	B	B	B	A	A	A	C	B	B	B	C	C	C	C	C	A	a	C	a	a	A	A	A	A	A	B	A	o	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	B	B	B	A	A	A	a	a
24	a	A	o	o	a	o	o	a	A	A	A	A	a	a	a	a	a	o	a	a	a	A	a	a	A	a	a	A	A	a	o	a	a	a	o	a	A	A	a	A	o	A	A	A	A	A	A	B	A	o	A	A	o	o
25	o	A	o	o	o	o	o	a	a	o	a	o	a	a	a	a	a	a	o	o	o	A	a	a	a	a	a	A	A	A	A	A	a	a	o	a	a	A	o	A	o	A	A	a	A	A	B	A	A	o	A	A	o	o
26	o	A	o	o	o	o	a	A	a	a	o	a	a	a	a	a	a	a	A	a	a	A	a	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	a	a	a	a	o	a	o	o	o	o	A	o	o	o	o	o	a	o
27	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	o	o	o	o	a	a	a	o	a	a	o	a	A	a	a	a	o	o	o	o	o
28	o	A	o	a	a	a	a	A	A	A	A	a	A	A	A	A	a	A	A	A	A	A	A	A	A	A	a	A	A	B	A	A	a	a	a	a	a	a	o	o	a	A	o	a	a	o	a	A	o	o	o	o	o	A
29	a	A	o	a	A	a	A	C	A	A	A	a	A	B	A	A	a	B	C	B	A	B	a	A	A	a	a	A	A	A	A	A	a	A	A	A	A	B	B	C	A	A	C	B	B	C	A	B	C	C	A	C	a	B
31	a	A	o	o	a	o	o	a	a	o	o	a	o	o	o	a	o	a	a	a	a	A	a	a	A	a	a	a	A	A	A	A	A	a	o	A	B	A	o	B	B	B	A	A	B	C	C	B	A	o	C	B	a	o
32	o	A	o	o	o	o	o	o	o	a	o	a	o	a	a	a	o	a	o	a	o	a	a	a	A	o	o	A	A	A	A	A	A	a	o	A	B	A	o	A	A	A	A	A	A	C	C	B	B	o	B	B	a	o
33	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	o	o	A	A	B	o	A	A	A	A	B	A	B	B	B	B	B	B	B	o	o
34	o	A	o	a	a	a	a	o	a	o	a	o	a	a	a	o	o	o	a	a	a	A	o	a	a	o	o	o	a	a	a	a	a	o	o	a	A	A	o	A	a	A	A	A	A	B	B	B	a	o	A	B	o	o
57	a	A	o	o	o	a	o	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	A	a	a	a	o	o	A	A	A	A	A	o	o	o	o	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	o	a	o	o	o	o
60	o	A	o	o	o	o	o	a	o	a	o	o	o	a	o	a	o	a	a	a	a	a	o	o	a	o	o	a	a	a	a	a	A	o	o	A	A	A	o	o	a	A	A	A	A	A	B	A	B	o	a	B	o	o
64	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	A	o	o	A	A	D	o	D	D	D	D	D	B	D	D	D	B	a	D	C	o	a
65	o	a	o	o	o	o	o	o	a	o	a	o	o	o	o	a	o	o	o	a	a	a	a	a	a	o	o	a	a	a	a	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	o	o
80	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a	o	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	a

Vol. XXXI. — *Études sur le B. d'Eberth et les B. paratyphiques.*

(IIe Mémoire, par M. Nicolle, E. Debains et Mlle A. Raphael)

2.10^{-3}, 10^{-3}, $0,5.10^{-3}$... cent. cube). Après mélange intime, les tubes, fermés au coton, demeuraient sur la table du laboratoire pendant 24 heures; la lecture se faisait ensuite à l'œil nu (aidé de la loupe).

NOTATIONS EMPLOYÉES DANS LE TABLEAU QUI RÉSUME LES EXPÉRIENCES

Il nous a paru avantageux de remplacer les chiffres (sauf le signe 0) par des lettres, d'une lecture bien plus facile. Voici le sens de ces lettres :

(0 = agglutination nulle avec 10^{-2} cent. cube de sérum).
a = agglutination incomplète (mais très nette) avec 10^{-2} cent. cube de sérum.
A = agglutination complète avec 10^{-2}, habituellement incomplète (rarement nulle) avec $0,5.10^{-2}$.
B = agglutination complète avec $0,5.10^{-2}$, habituellement incomplète (rarement nulle) avec 2.10^{-3}.
C = agglutination complète avec 2.10^{-3}, habituellement incomplète (rarement nulle) avec 10^{-3}.
D = agglutination complète avec 10^{-3}, habituellement incomplète (rarement nulle) avec $0,5.10^{-3}$.

Toutefois, nous ne ferons pas état des titres agglutinatifs observés, à cause de la faiblesse relative de nos sérums.

[*Aucun des germes n'est influencé* (même incomplètement) *par le sérum de lapin normal*, dilué à 10^{-2}.]

RÉSULTATS DES EXPÉRIENCES (ÉCHANTILLONS NORMAUX)

Quand on embrasse, d'un coup d'œil, le *tableau* qui résume nos expériences, on s'étonne de ne pas y rencontrer, sur « fond de zéros », trois « carrés » remplis de lettres et bien délimités (suffisamment bien délimités, tout au moins) — « carrés » symbolisant l'interaction des trois groupes de sérums et des trois groupes d'échantillons.

Si, maintenant, on vient à examiner, parallèlement, le pouvoir agglutinant de chaque sérum (rangée horizontale) et l'ag-

glutinabilité de l'échantillon correspondant (rangée verticale), on s'aperçoit que les deux propriétés n'offrent généralement aucun rapport, pour l'ensemble du tableau. Pour les trois « carrés », arbitrairement délimités, il y a réciprocité fréquente (rien de plus) dans le domaine des τ et des α, moins fréquente dans le domaine des β.

Avant d'expliquer ces faits, d'apparence anormale, il convient d'étudier, successivement, le pouvoir agglutinant des divers sérums et l'agglutinabilité des divers microbes.

[Les sérums antityphiques, antiparatyphiques A et antiparatyphiques B seront ainsi désignés : sérums T, sérums A, sérums B; ou même : T, A, B.]

Pouvoir agglutinant des sérums.

[En ce qui concerne le pouvoir agglutinant des sérums et l'agglutinabilité des germes, négliger, pour le moment, les échantillons (anormaux) : 39; 6; 7; 24, 33, 34; 27, 28, 29.]

Sérums T.

Action sur les bacilles τ. — Plus de la moitié des sérums agglutine tous les τ, le reste, sauf 1, presque tous.

Action sur les bacilles α. — Un quart des sérums agglutine la majorité des α; avec le reste, on descend du tiers des échantillons à 0 (1 sérum).

Action sur les bacilles β. — La grande majorité des sérums n'agglutine qu'une minorité des β; 2 sérums n'agglutinent point.

Donc : résultats « logiques » pour les τ, variables pour les α, inhabituels pour les β. Dans la règle, les sérums ne se montrent pas spécifiques. Les seuls auxquels on puisse donner cette épithète sont : le n° 48, qui agglutine tous les τ, un α et aucun β — le n° 35, qui agglutine tous les τ, deux β et aucun α. Parmi les moins spécifiques citons : les n°s 34 et 58, du type T + A (action très étendue sur les α et négligeable sur les β) — et les n°s 11 et 13, du type T + A + B (action très étendue sur les α et les β).

Sérums A.

Action sur les bacilles τ. — La majorité des sérums agglutine la majorité des τ; avec le reste, on tombe de 4 échantillons à 0 (2 sérums).

Action sur les bacilles α. — La majorité des sérums agglutine tous les α; 2 sérums, presque tous; 2, la majorité.

Action sur les bacilles β. — La grande majorité n'agglutine que de rares β : 3 sérums n'en agglutinent aucun.

Donc : résultats « logiques » pour les α, variables pour les τ, inhabituels pour les β. Le seul sérum spécifique est le n° 66, qui agglutine tous les α et n'agit ni sur les τ ni sur les β. On peut citer, comme très voisin, le n° 22, qui agglutine tous les α, un seul τ et aucun β. Les autres n'offrent pas d'électivité, notamment les n°s 67, 59 et 70, du type A + T (action très étendue sur les τ et négligeable sur les β).

Sérums B.

Action sur les bacilles τ. — Plus de la moitié des sérums agglutine la grande majorité des τ (2 fois la totalité) ; avec la minorité, on descend de la moitié des échantillons à 1 (1 sérum).

Action sur les bacilles α. — Plus de la moitié des sérums agglutine la majorité des α (4 fois, la totalité) ; on tombe ensuite jusqu'à 0 (2 sérums).

Action sur les bacilles β. — Moins d'un tiers agglutine la grande majorité des β (2 fois la totalité) ; plus de la moitié agglutine plus de la moitié des β : on descend ensuite jusqu'à 1 seul échantillon (1 sérum).

Donc : résultats peu satisfaisants pour les β ; « trop satisfaisants » pour les τ et les α. Le sérum le moins mauvais au point de vue de la spécificité est le n° 64, qui agglutine 13 β, un seul τ et aucun α. Le sérum le moins électif (*parmi nos 45*) est le n° 9, qui agglutine tous les échantillons, sauf un β. Entre les sérums 64 et 19 se placent les sérums du type B + T (action étendue sur les τ, négligeable sur les α), comme le n° 1 ; et du type B + T + A (action très étendue sur les τ et les α), comme le n° 8. Enfin, on rencontre des *sérums de nature paradoxale* : type T, représenté par les n°s 4 et 26, notamment ; type A, représenté, en particulier, par le n° 65 ; type T + A (action très étendue sur les τ et les α, négligeable sur les β), comme le n° 57.

Agglutinabilité des germes.

Échantillons τ.

Action des sérums T. — La moitié des τ sont agglutinés par tous les sérums T ; l'autre moitié par la presque totalité ou la grande majorité.

Action des sérums A. — Plus de la moitié des τ est agglutinée par plus de

la moitié des sérums A; on descend ensuite jusqu'à l'agglutination par 1 seul sérum.

Action des sérums B. — La grande majorité est agglutinée par plus de la moitié des sérums B; on tombe ensuite jusqu'à l'agglutination par 3 sérums.

Donc : résultats « logiques », avec les sérums T; variables, avec les sérums A et B. Absence de spécificité. Le « moins mauvais » échantillon est le n° 9, agglutiné par tous les sérums T, deux sérums A et 3 sérums B. Le « plus mauvais », le n° 68, agglutiné par tous les sérums T, 7 sérums A et 15 sérums B. La majorité des τ appartient aux types $\tau + \alpha$ (agglutination par plus de la moitié des sérums A), $\tau + \beta$ (agglutination par la majorité des sérums B et la minorité des sérums A), $\tau + \alpha + \beta$ (agglutination par la majorité des sérums B et plus de la moitié des sérums A).

Échantillons α.

Action des sérums T. — Un seul α est agglutiné par la grande majorité des sérums T; le reste, par la minorité (limite : agglutination par 1 seul sérum).

Action des sérums A. — Plus de la moitié des α est agglutinée par tous les sérums A; le reste, par la majorité.

Action des sérums B. — La grande majorité est agglutinée par plus de la moitié des sérums B; le reste, par 6 seulement.

Donc : résultats « logiques », avec les sérums A; inhabituels, avec les sérums T; variables, avec les sérums B. Le « moins mauvais » échantillon est le n° 56, agglutiné par 7 sérums A, 1 sérum T et 6 sérums B. Le « plus mauvais », le n° 23, agglutiné par tous les sérums A, 18 sérums T et 14 sérums B. La majorité des α appartient aux types $\alpha + \beta$ (agglutination par nombre de sérums B et peu de sérums T) et $\alpha + \beta + \tau$ (agglutination par nombre de sérums B et plus ou moins de sérums T).

Échantillons β.

Action des sérums T. — 3 échantillons sont agglutinés par plus de la moitié des sérums T; le reste, par un nombre qui décroît jusqu'à 0.

Action des sérums A. — Pas d'agglutination dans la majorité des cas (1 échantillon est agglutiné par la majorité des sérums A; 2, par la minorité).

Action des sérums B. — La majorité des échantillons est agglutinée par la moitié des sérums B; le reste, par un nombre décroissant (minimum : 6).

Donc : résultats variables avec les sérums B; inhabituels, avec les sérums T; exceptionnels, avec les sérums A. Pas d'échantillons susceptibles d'être dénommés les « moins mauvais » ou les « plus mauvais ». On rencontre des germes du type $\beta + \tau$ (agglutination par nombre de sérums T et par aucun sérum A) et un seul exemplaire du type $\beta + \alpha$ (agglutination par nombre de sérums A et peu de sérums T). Citons encore le *type paradoxal* $\tau + \beta$ (agglutination par la minorité des sérums B et peu ou pas de sérums A).

Conclusions.

Pour comprendre le sens des résultats, d'apparence anormale, qui viennent d'être obtenus en analysant notre tableau, il est indispensable de se représenter la genèse et le mode d'action des anticorps (ici, les agglutinines). Les travaux des auteurs et les nôtres permettent de résumer la question comme il suit.

Genèse et mode d'action des anticorps.

Ils relèvent de causes complexes, que l'on ne peut dissocier sans comparer entre elles de très nombreuses expériences, instituées dans des directions très variées.

Formation des anticorps.

Elle dépend de l'antigène (ici, le microbe), de l'animal et de la façon dont cet animal a été traité.

Facteur microbe. — Il faut considérer sa nature, c'est-à-dire la quantité respective des divers *antigènes élémentaires* qu'il contient et « l'état particulier » de ces antigènes, leur conférant ou non le pouvoir de provoquer, chez l'animal approprié, l'apparition des anticorps homologues. Comment caractériser l' « état particulier » dont nous venons de parler? On serait tenté de le dénommer état physique (variable), par opposition à la constitution chimique (toujours la même); mais il conviendrait, alors, de faire des hypothèses motivées sur la structure des antigènes et de définir, en général, un état physique et une constitution chimique. Inutile, pour le but que nous pour-

suivons aujourd'hui, d'aborder des questions aussi ardues. Elles seront soulevées ailleurs.

Facteur animal. — Si les *microbes* apparaissent plus ou moins *agglutinogènes*, l'*animal*, lui, se montre plus ou moins *aggluti-nopoïétique* (vis-à-vis des divers antigènes élémentaires et sans rapport forcé avec leurs quantités respectives). C'est, avant tout, affaire d'espèce ; mais, subsidiairement, de conditions physiologiques et pathologiques.

[*Traitement suivi.* — Masse de germes injectée; intervalles séparant les injections ; voie employée.]

Action des anticorps.

Elle se trouve liée : au microbe, au sérum et aux circonstances expérimentales. Nous négligerons d'autant mieux ces dernières (maintenues invariables dans nos recherches) qu'il s'agit ici d'effets *in vitro*, donc relativement simples.

Facteur microbe. — Mêmes réflexions que tout à l'heure. Ajoutons-y l'indépendance du pouvoir agglutinogène et de l'agglutinabilité, que révèle immédiatement notre tableau.

Facteur sérum. — Il faut considérer sa teneur en *anticorps élémentaires* et, certainement aussi, l' « état particulier » de ces anticorps. L'interaction des microbes et des agglutinines est régie non seulement par des rapports de quantité, mais encore par des rapports d'intensité — comme l'interaction des microbes et de l'organisme antipoïétique — *comme*, au surplus, *tous les phénomènes naturels.* Les variations d'intensité, si importantes, ne font que refléter les variations de l' « état particulier » des antigènes et des anticorps.

[Rappelons que les propriétés des sérums se modifient avec l'âge et le genre de conservation. On peut aussi les modifier artificiellement.]

Explication et sens des recherches actuelles.

Les quelques vues théoriques, que l'on vient de résumer, permettront de comprendre, sans réelle difficulté, les anomalies inattendues qui semblent le résultat le plus clair de nos expériences.

Absence de « carrés » bien délimités sur le tableau.

(Révélant une absence de spécificité dans les interactions des trois groupes de sérums et des trois groupes de germes.) La raison en est double. D'abord, les antigènes τ, α et β ne sont pas propres respectivement aux seuls groupes τ, α et β, mais communs à ces trois collectivités (et à d'autres). Ensuite, parmi les espèces animales couramment employées, c'est certainement le lapin qui offre le domaine « antipoïétique » le plus étendu (voir, là-dessus, les recherches de l'un de nous et de Césari. (*Journ. de Phys. et de Path. générale*, septembre 1915.) On conçoit donc le caractère forcément diffus de notre tableau.

Nous venons de dire que les antigènes τ, α et β n'étaient pas spéciaux aux seuls groupes τ, α et β, mais communs aux trois collectivités. Où trouver la preuve de l'existence réelle de ces curieuses substances? Dans les *cas exceptionnels*, déjà mentionnés et que nous allons rappeler.

L'échantillon 48, τ type (au point de vue de ses caractères biologiques) engendre un sérum qui agglutine tous les τ, un seul α et nul β. Il ne contient donc qu'une agglutinine spécifique, à laquelle répond spécifiquement l'antigène habituellement dominant chez les τ (l'*antigène typhique*, peut-on dire sans inconvénient dans l'état actuel de nos connaissances). L'échantillon 35 se comporte presque de même. — L'échantillon 66, α type (au point de vue de ses caractères biologiques) engendre un sérum qui agglutine tous les α, nul τ, nul β. Il ne contient donc qu'une agglutinine spécifique, à laquelle répond spécifiquement l'antigène habituellement dominant chez les α (*antigène paratyphique A*). L'échantillon 22 se comporte presque de même. — L'échantillon 64, β type (au point de vue de ses caractères biologiques), engendre un sérum qui agglutine la grande majorité des β, 1 seul τ et nul α. Il ne contient donc qu'une agglutinine spécifique, à laquelle répond spécifiquement l'antigène habituellement dominant chez les β (*antigène paratyphique B*). Parmi les germes anormaux, nous rencontrerons l'échantillon 33, qui se comporte de même.

[On nous pardonnera la forme, *volontairement monotone*, avec laquelle nous avons cru devoir établir l'existence réelle des

trois types d'antigènes. Il nous a paru nécessaire de *marteler* ainsi notre démonstration.]

Les sérums 48, 56 *et* 64 *constituent des réactifs parfaits, pour l'identification des* τ; α *et* β.

Au point de vue de l'agglutinabilité (et non plus du pouvoir agglutinogène), il n'existe pas d'échantillons offrant un caractère spécifique; sauf, cependant, parmi les groupes anormaux, où nous trouvons (*vide infra*) les n°s 24, 29, 33 et 34, agglutinés par la majorité des sérums B, peu de sérums T (1-4) et nul sérum A (le n° 33 se montre également spécifique, dans sa propriété agglutinogène).

L'électivité des « bons » sérums, obtenus chez les lapins, tient donc à une *action exclusive* sur les τ, α ou β. Nous verrons que l'électivité des sérums, obtenus chez les chevaux, tient essentiellement à une *action dominante*.

Absence habituelle de rapport entre le pouvoir agglutinant des sérums et l'agglutinabilité des échantillons, dans l'ensemble du tableau.

(Révélant l'absence habituelle de rapport entre le pouvoir agglutinogène et l'agglutinabilité de ces échantillons, puisque l'espèce choisie demeure constante). Si l'on ne peut définir clairement le « rapport normal » de deux propriétés, on perçoit cependant fort bien tout écart notable et la disparition de l'une d'elles crève les yeux.

Chez certains échantillons, le « rapport normal » demeure constant, mais la richesse ou la pauvreté en antigènes élève ou abaisse parallèlement la valeur de ses deux termes (pouvoir agglutinogène *et* agglutinabilité forts ou faibles). Ailleurs, on rencontre ces discordances, d'étendue variable, si fréquentes dans notre tableau et susceptibles d'opposer à un type de pouvoir agglutinogène un type d'agglutinabilité radicalement différent. Enfin, on peut voir manquer le seul pouvoir agglutinogène (le bacille n° 6, anormal, essentiellement inagglutinogène, se révèle fort agglutinable). Le bacille Shiga-Dopter, étudié jadis au laboratoire (M. Nicolle, E. Debains et G. Loiseau. — Ces *Annales*, août 1910), offrait des caractères opposés; nous

le rappelons ici, ne possédant pas d'exemple analogue dans le domaine des τ, α et β.

On peut voir, sur le tableau, que plusieurs de nos échantillons demeurent insensibles à leur propre sérum (n°s 10, 30, 37 pour les τ; 56 pour les α; 35, 65 pour les β).

Dans les trois « carrés », arbitrairement délimités, réciprocité fréquente entre le pouvoir agglutinant des sérums et l'agglutinabilité des germes chez les τ et les α, moins habituelle chez les β.

Cela veut dire que le rapport entre le pouvoir agglutinogène et l'agglutinabilité de *l'antigène* τ (*ou* α) est fréquent chez les τ (ou α), tandis que le rapport entre le pouvoir agglutinogène et l'agglutinabilité de *l'antigène* β l'est moins chez les β.

Toute discordance se traduit, naturellement, dans le tableau, par des « zéros ». Les zéros révèlent aussi le phénomène suivant : un germe bien agglutinable peut demeurer insensible au sérum qu'engendre un germe bien agglutinogène *de la même famille* (exemple, pris au hasard; l'échantillon n° 38 et le sérum n° 3). Il faut en conclure qu'entre l'antigène du premier microbe et celui du second, antigènes de même type (τ, dans l'exemple choisi), existent certaines différences de structure (sans doute légères). De telles différences ont été démontrées chez les pneumocoques, par des expériences irréfutables (A. Raphael : *De l'immunité antipneumococcique.* Thèse de doctorat en médecine, Paris, 1916).

RÉSULTATS DES EXPÉRIENCES (ÉCHANTILLONS ANORMAUX)

Nous analyserons, successivement, ces échantillons, d'après le groupement établi dans le mémoire précédent.

Groupe 1.

Un seul représentant, le n° 39, a été étudié.

Sérum 39. — Absence de spécificité (type T + A, avec action étendue sur les β).

Echantillon 39. — Absence de spécificité (type $\tau + \beta$, avec agglutination par plus de la moitié des A).

Donc : indétermination (avec les sérums de lapins, naturellement).

Groupe 2.

Non étudié.

Groupe 3.

Seul représentant, le n° 6.

Sérum 6. — Inactif sur tous les germes.
Echantillon 6. — Absence de spécificité (type $\tau + \beta$, avec agglutination par les 2/3 des A).

Donc : indétermination.

Groupe 4.

Un seul représentant, le n° 7, a été étudié.

Sérum 7. — Absence de spécificité (type A + T, action B négligeable).
Echantillon 7. — Absence de spécificité (type $\alpha + \tau + \beta$).

Donc : indétermination.

Groupes 5 et 6.

Non étudiés.

Groupe 7.

Sérum 24. — Absence de spécificité (type A + B + T).
Echantillon 24. — C'est un β (action A = 0, action T négligeable).
Sérum 33. — C'est un sérum B (action sur les α = 0, action sur les τ négligeable).
Echantillon 33. — C'est un β (action A = 0, action T négligeable).
Sérum 34. — Absence de spécificité (type T + A + B).
Echantillon 34. — C'est un β (action A = 0, action T négligeable).

Donc : au point de vue agglutinogène, le n° 33 seul est un β, les deux autres demeurent indéterminés; au point de vue de l'agglutinabilité, les trois échantillons sont des β (et les « meilleurs » de tous).

Groupe 8.

Sérum 27. — C'est un sérum B (faible; action sur les α nulle, action sur les τ négligeable).

Echantillon 27. — Absence de spécificité (action B + T peu étendue, action A = 0).

Sérum 28. — Absence de spécificité (type T + A, avec action sur les B dans la moitié des cas).

Echantillon 28. — Absence de spécificité (action B + T peu étendue, action A = 0).

Sérum 29. — Absence de spécificité (agglutine 53 échantillons sur 54, comme le sérum 19 — n'agglutine pas le n° 6, alors que le sérum 19 n'agglutine pas le n° 4).

Echantillon 29. — C'est un β (action A = 0, action T négligeable).

Donc : au point de vue agglutinogène, le n° 27 seul est un β, les deux autres demeurant indéterminés ; au point de vue de l'agglutinabilité, le n° 29 seul est un β, les deux autres demeurant indéterminés.

Conclusions.

Il est curieux de voir que, parmi nos échantillons anormaux, se rencontrent des germes spécifiques quant à leur pouvoir agglutinogène (n° 27), quant à leur agglutinabilité (n°s 24, 29, 34) et même quant à ces deux propriétés (n° 33). La proportion est bien plus forte que parmi les germes normaux.

Il n'existe donc aucun rapport forcé entre la distribution des caractères biologiques et la distribution des caractères antigènes. [Ces derniers peuvent revêtir le type spécifique, soit dans le sens du pouvoir agglutinogène, soit dans le sens de l'agglutinabilité, soit dans les deux sens.]

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les recherches exposées ici « illustrent », d'une façon schématique, la conception des microbes envisagés comme « mosaïques d'antigènes » et pas seulement comme « mosaïques de propriétés biologiques ».

Elles suggèrent, par là même, des idées complètement nouvelles sur l'immunisation active ou passive et les moyens de la réaliser.

Elles démontrent que le pouvoir agglutinogène et l'agglutinabilité représentent deux caractères distincts. Chez les bacilles typhiques et les bacilles paratyphiques A, l'agglutinabilité

(générale) l'emporte sur le pouvoir agglutinogène (général), alors que le contraire s'observe chez les bacilles paratyphiques B.

Malgré la coexistence habituelle des trois antigènes élémentaires (typhique, paratyphique A et paratyphique B) dans l'ensemble des germes étudiés, elles ont permis d'obtenir des sérums rigoureusement spécifiques avec certains échantillons et d'escompter le même résultat chez le cheval — *l'expérience justifiera cet espoir.*

Grâce à la coexistence habituelle des trois antigènes, elles ont permis d'obtenir des sérums omnivalents et d'escompter le même résultat chez le cheval — *l'expérience démontrera le contraire.*

ÉTUDES
SUR LE BACILLE D'EBERTH
ET LES BACILLES PARATYPHIQUES

(TROISIÈME MÉMOIRE)

AGGLUTINATION DE 70 ÉCHANTILLONS EN PRÉSENCE DE SÉRUMS DE CHEVAUX IMMUNISÉS

par M. NICOLLE, E. DEBAINS et Mlle A. RAPHAEL

Dans le mémoire précédent, nous avons établi que certains germes étaient capables d'engendrer, chez les lapins, des sérums spécifiquement agglutinants : tels, les nos 48 (bacille typhique — abréviativement bacille τ ou τ), 66 (bacille paratyphique A — bacille α ou α) et 64 (bacille paratyphique B — bacille β ou β) — et, qu'inversement, d'autres germes fournissaient des sérums omnivalents; tels, les nos 19 (β normal) et 29 (β anormal). Les sérums spécifiques n'agglutinent qu'une seule catégorie de microbes, les sérums omnivalents agissent sur tous les échantillons (sauf un).

Des chevaux ont été immunisés avec les cinq germes indiqués; le travail actuel exposera les résultats obtenus. Mentionnons, immédiatement, les faits suivants. D'abord, la spécificité des sérums 48 (abréviativement sérum T ou T), 66 (sérum A ou A) et 64 (sérum B ou B), escomptée d'avance. Ensuite, la spécificité des sérums 19 (sérum N ou N) et 29 (sérum P ou P), inattendue; ces deux sérums se comportent comme des sérums B typiques. Nous avons déjà annoncé, dans le mémoire précédent, que la spécificité des sérums équins n'était pas due, comme celle des sérums engendrés par les lapins, à une action exclusive sur tel des trois groupes de germes, mais, d'ordinaire, à une action dominante; on montrera, ici,

que cette dominance concorde absolument avec le caractère exclusif observé ailleurs. Ajoutons, enfin, que l'étude comparée des sérums B, H et P prouve la supériorité du sérum P sur les deux autres sérums antiparatyphiques B. Aussi avons-nous choisi le dernier pour « réactif antigène » (à côté des sérums T et A). Peu importe que le sérum P soit fourni par un β, anormal quant aux caractères biologiques, puisque nos recherches antérieures ont révélé l'absence de rapport forcé entre ces caractères et les caractères antigènes.

Nous suivrons, dans notre mémoire actuel, le même plan que dans le travail précédent.

IMMUNISATION DES ANIMAUX

On s'est servi, exclusivement, de germes tués par l'alcool-éther et obtenus comme il suit :

On ensemence une série de boîtes de Roux, contenant de la gélose à la pomme de terre (ces *Annales*, juillet 1909). Après 24 heures (37°) : émulsion des dépôts microbiens en eau physiologique et turbinage (centrifuge de Jouan). On traite ensuite les culots par un excès d'alcool-éther (aã) et, le lendemain, on dessèche la masse bactérienne vers 40° (appareil de Jouan).

Les chevaux, dont l'observation complète sera rapportée ailleurs, ont reçu, d'abord sous la peau puis dans les veines, des émulsions de « bacilles alcool-éther » bouillies pendant 5 minutes.

PRÉPARATION DES SUSPENSIONS MICROBIENNES

Les germes, cultivés sur gélose-pomme de terre (sans eau de condensation), en partant d'une semence jeune sur gélose Martin, étaient émulsionnés, après 24 heures d'étuve, dans l'eau physiologique, à raison d'un centigramme de corps bacillaires par 20 cent. cubes de solution saline (NaCl 1 p. 100).

TECHNIQUE DE L'ACGLUTINATION

On ajoutait, pour 1 cent. cube d'émulsion : 1/200 (*limite inférieure, que nous avons cru devoir adopter*), 1/500, 1/1.000, 1/2.000 ... de cent. cube de sérum (soit : $0{,}5.10^{-2}$, 2.10^{-3},

10^{-3}, $0,5.10^{-3}$... cent. cube). Après mélange intime, les tubes, fermés au coton, demeuraient sur la table du laboratoire pendant 24 heures; la lecture se faisait ensuite à l'œil nu (aidé de la loupe).

NOTATIONS EMPLOYÉES DANS LE TABLEAU QUI RÉSUME LES EXPÉRIENCES

Il nous a paru avantageux de remplacer les chiffres (sauf le signe 0) par des lettres, d'une lecture bien plus facile. Voici le sens de ces lettres.

(0 = agglutination nulle avec $0,5.10^{-2}$ cent. cube de sérum.)

b = agglutination incomplète (*mais très nette*) avec $0,5.10^{-2}$ cent. cube de sérum.

B = agglutination complète avec $0,5.10^{-2}$, habituellement incomplète (rarement nulle) avec 2.10^{-3}.

	BACILLES TYPHIQUES																				B. PARATYPHIQUES A								
..UMS.	2	9	10	11	12	13	16	17	18	20	30	35	36	37	38	48	58	61	63	68	22	23	56	59	66	67	69	70	71
. .	H	F	b	G	H	H	G	G	H	G	B	H	G	G	H	G	G	G	F	G	b	C	b	C	0	b	C	B	0
. .	C	b	0	C	D	B	b	B	B	B	b	C	B	C	B	0	b	b	b	B	H	E	F	F	H	H	I	I	G
. .	D	C	b	D	D	E	D	E	B	B	b	E	D	C	C	0	B	B	C	E	C	b	C	D	B	D	D	D	B

	BACILLES PARATYPHIQUES B																G 1		G. 2		G. 3	G. 4	
..UMS.	1	3	4	8	14	15	19	25	26	31	32	57	60	64	65	80	39	97	52	124	6	7	115
. .	D	E	D	B	B	C	B	B	C	B	B	C	B	D	H	D	G	G	0	G	G	B	F
. .	B	B	0	B	C	C	B	C	C	C	B	b	B	B	G	b	B	0	0	0	D	D	E
. .	G	E	D	H	H	G	E	G	G	I	H	F	G	G	H	D	B	D	0	0	E	b	G

	GROUPE 5											G. 6	G. 7			G. 8		
..UMS.	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	95	24	33	34	27	28	29
. .	B	0	0	0	B	0	0	0	0	0	B	0	B	B	B	E	B	B
. .	G	G	G	F	G	G	G	G	G	F	G	0	C	b	b	0	b	B
.	D	B	C	0	C	B	C	B	B	B	B	0	H	F	F	G	G	G

C = agglutination complète avec 2.10^{-3}, habituellement incomplète (rarement nulle) avec 10^{-3}.

D = agglutination complète avec 10^{-3}, habituellement incomplète (rarement nulle) avec $0,5.10^{-3}$.

E = agglutination complète avec $0,5.10^{-3}$, habituellement incomplète (rarement nulle) avec 2.10^{-4}.

Et ainsi de suite...

Remarques. — Tous les échantillons, étudiés ici, figurent dans notre premier mémoire. — Aucun d'eux n'est agglutiné à $0,5.10^{-2}$ par le sérum équin normal.

RÉSULTATS DES EXPÉRIENCES (ÉCHANTILLONS NORMAUX)

Pouvoir agglutinant des sérums.

Sérum T (cheval n° 855; 15e saignée).

Action sur les bacilles τ. — Constante; minimum b, maximum H.
Action sur les bacilles α. — 2 fois nulle: minimum b, maximum C.
Action sur les bacilles β. — Constante; minimum B, maximum E (exceptionnellement, H, avec le n° 65).

Donc : valeur absolue du sérum : > E, c'est-à dire > $0,5.10^{-3}$ (sauf avec le n° 65).

Le sérum T constitue un réactif parfait pour l'identification des bacilles τ, puisqu'il exerce son effet spécifique, sur eux, dans les neuf dixièmes des cas et qu'il n'offre la même électivité que sur un seul germe étranger, de nature manifestement exceptionnelle.

Sérum A (cheval n° 857; 14e saignée).

Action sur les bacilles τ. — 2 fois nulle; minimum b, maximum D.
Action sur les bacilles α. — Constante; minimum E, maximum I.
Action sur les bacilles β. — 3 fois nulle; minimum b, maximum C (G, exceptionnellement, avec le n° 65).

Donc : valeur absolue du sérum : > D, c'est-à-dire > 10^{-3} (sauf avec le n° 65).

Le sérum A constitue un réactif parfait pour l'identification des bacilles α, puisqu'il exerce son effet spécifique, sur eux,

dans tous les cas et qu'il n'offre la même électivité que sur un seul germe étranger, de nature manifestement exceptionnelle.

Sérum P (cheval n° 858; 13e saignée).

Action sur les bacilles τ. — 1 fois nulle; minimum b, maximum E.
Action sur les bacilles α. — Constante; minimum b, maximum D.
Action sur les bacilles β. — Constante; minimum D, maximum I.

Donc : valeur absolue du sérum : > E, c'est-à-dire > $0{,}5.10^{-3}$.

Le sérum P constitue un *assez bon* réactif pour l'identification des bacilles β; il exerce son effet spécifique, sur eux, dans les trois quarts des cas.

Le *sérum* B (cheval n° 856; 14e saignée), préparé avec l'échantillon 64, se montre moins actif que le sérum P. Le *sérum* II (cheval n° 854; 15e saignée), préparé avec l'échantillon 19, n'exerce son effet spécifique qu'au-dessus de F (2.10^{-4}). Le choix du sérum P, comme agent d'identification, est donc parfaitement légitime. Nous lui gardons le nom de sérum P (et non B), pour ne pas amener de confusion dans l'ensemble de nos notes et dans des travaux ultérieurs, où il figurera de nouveau, ainsi que d'autres sérums antiparatyphiques B.

AGGLUTINABILITÉ DES GERMES.

Échantillons τ.

Agglutination constante avec le sérum T, presque constante avec le sérum P, inconstante avec le sérum A. Dans la règle, les bacilles typhiques sont influencés par les trois sérums, avec dominance du sérum T.

Valeur réactive des échantillons pour lesquels on trouve un chiffre > E ($0{,}5.10^{-3}$). Certains τ se montrent plus agglutinables par le sérum T que le n° 48.

Echantillons particuliers. — N° 48 : tout à fait spécifique — n° 10 : ne réagit qu'aux sérums T et P et encore faiblement (*indétermination*) — n° 30 : réagit aux trois sérums, mais peu (*indétermination*).

Échantillons α.

Agglutination constante avec les sérums A et P, inconstante avec le sérum T. Dans la règle, les bacilles paratyphiques A sont influencés par les trois sérums, avec dominance du sérum A.

Valeur réactive des échantillons pour lesquels on trouve un chiffre > D (10^{-3}). Certains α se montrent plus agglutinables par le sérum A que le n° 66.

Echantillons particuliers. — Nos 66 et 71; relativement spécifiques, en ce sens qu'ils ne réagissent pas au sérum T.

Échantillons β.

Agglutination constante avec les sérums P et T, inconstante avec le sérum A. Dans la règle, les bacilles paratyphiques B sont influencés par les trois sérums, avec dominance du sérum P.

Valeur réactive des échantillons pour lesquels on trouve un chiffre > E ($0,5.10^{-3}$) — unique exception : le n° 65. Certains β se montrent plus agglutinables par le sérum P que le n° 29.

Échantillons particuliers. — No 65: réagit également et fortement aux trois sérums (*indétermination*) — nos 3 et 80 : réagissent autant au sérum T qu'au sérum P (*indétermination*) — no 4: de même; ne réagit point au sérum A.

Conclusions.

Les sérums T, A et P constituent d'*excellents réactifs d'identification*. Ils ne sauraient permettre de classer tous les échantillons, pour la bonne raison que certains de ces échantillons sont anormaux dans leur « structure antigène » — de même, les meilleurs milieux d'épreuve ne consentent pas « la moindre complaisance » vis-à-vis des germes dont les caractères biologiques demeurent irréguliers. Les bacilles paratyphiques B se montrant les plus anormaux dans leur structure antigène, il en résulte que le sérum P demeure forcément inférieur aux sérums T et A, comme valeur diagnostique.

L'échantillon 48 représente un typhique parfait, puisqu'il ne réagit qu'au seul sérum T; les échantillons 66 et 71, des para-

typhiques A relativement parfaits, puisqu'ils réagissent au sérum P, mais non au sérum T; les échantillons 19 et 64, des paratyphiques B sans « supériorité » aucune. Il ne faut d'ailleurs pas s'exagérer l'*excellence* des germes 48, 66 (et, sans doute, 71), quant à leur agglutinabilité. C'est affaire de sérums (proprement, de saignées). Nous étudierons, au moment voulu, les caractères des sérums T, A et P, sur les échantillons 48, 66, 19, 29 et 64, lors des diverses saignées consécutives; mentionnons simplement les particularités suivantes.

Sérum T. — Il agglutine peu ou pas le n° 66, jusqu'à la 15e saignée; puis, il l'agglutine régulièrement.

Sérum A. — Il agglutine peu ou pas le n° 48, jusqu'à la 14e saignée; puis, il l'agglutine régulièrement (sauf lors de la 15e).

Sérum P. — Il agglutine régulièrement le n° 48, avant et après la 13e saignée (sauf lors de la 14e).

Par conséquent, dans la règle et sous le volume, arbitrairement choisi, de $0,5.10^{-2}$ cent. cube, les trois sérums n'offrent qu'une spécificité quantitative, comme nous l'avons dit et répété. Quantitative, également (et non moins précieuse en ses indications), apparaît la spécificité correspondante des germes. Et, *ici comme partout*, on ne peut mesurer exactement des différences de qualité que par des différences de quantité.

RÉSULTATS DES EXPÉRIENCES (ÉCHANTILLONS ANORMAUX)

Groupe 1.

Nos 39 et 97. — Ce sont des typhiques (au point de vue antigène, naturellement).

Groupe 2.

Nos 52 et 124. — Le n° 52, inagglutinable, demeure *indéterminé* (il faudrait étudier son pouvoir agglutinogène). Le n° 124 est un typhique parfait.

Groupe 3.

N° 6. — C'est un typhique.

Groupe 4.

Nos 7 et 115. — Le n° 7 est un paratyphique A; le n° 115, presque également sensible aux trois sérums, demeure *indéterminé.*

Groupe 5.

Nos 126 ... 136. — Ce sont des paratyphiques A. Plus des 2/3 ne sont pas agglutinés par le sérum T; le n° 129 l'emporte, comme « perfection », sur les nos 66 et 71; quatre échantillons correspondent à ce dernier, comme types d'agglutinabilité.

Groupe 6.

N° 95. — Inagglutinable; *indéterminé.*

Groupe 7.

Nos 24, 33 *et* 34. — Ce sont des paratyphiques B; les nos 33 et 34 sont à peine agglutinés par le sérum A.

Groupe 8.

Nos 27, 28 et 29. — Ce sont des paratyphiques B; le n° 27 n'est pas agglutiné par le sérum A, le n° 28 à peine.

Conclusions.

Parmi les 25 échantillons, anormaux au point de vue des caractères biologiques, 23 se sont révélés normaux au point de vue des caractères antigènes (l'agglutination étant utilisée comme moyen d'analyse). Les sérums équins ont permis d'identifier tous les germes que les sérums des lapins (moins efficaces) laissaient indéterminés.

Parmi les 45 échantillons, normaux au point de vue des caractères biologiques, 6 se sont révélés anormaux au point de vue des caractères antigènes. Mentionnons que le sérum II permet d'en identifier deux (nos 3 et 80), comme paratyphiques B.

Ainsi que nous le disions dans le mémoire précédent, il n'existe aucun rapport forcé entre la distribution des caractères biologiques et celle des caractères antigènes. Pourquoi

s'en étonner? Ne sait-on pas que le bacille Flexner-origine se montre habituellement plus sensible au sérum Shiga-origine qu'au sérum Flexner-origine? Cependant, les bacilles de Flexner et de Shiga constituent des espèces radicalement distinctes. Ne sait-on pas que l' « antigène Forssman » peut être décelé, sans peine, dans le sérum de mouton, les hématies de mouton, le rein de cobaye, le rein de cheval, le testicule de cobaye... (M. Nicolle et Césari, *Journ. de Phys. et de Path. générale*, septembre 1915) — comme la propriété de fermenter tel ou tel sucre, dans les cellules animales, végétales ou microbiennes les plus diverses?

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Chacun de nos trois sérums révèle, par son action habituellement dominante sur tel des trois groupes microbiens, l'existence, au sein de ce groupe, d'un antigène habituellement dominant.

Quelle est la valeur respective des caractères biologiques et des caractères antigènes? Il ne saurait être question de différence hiérarchique, puisque ces caractères n'offrent point de commune mesure et présentent même volontiers des anomalies indépendantes. Il faut donc se borner à souligner l'utilité particulière de chacun d'eux.

On ne peut « partir », dans une étude rigoureuse, que d'échantillons strictement légitimes au point de vue biologique, tout le reste étant basé sur cette légitimité des « germes de référence ».

On ne peut employer, soit pour obtenir des sérums spécifiques, soit pour révéler la spécificité des sérums (séro-identification des microbes, séro-diagnostic des maladies), que des échantillons strictement légitimes au point de vue antigène (normaux ou non, au point de vue biologique, peu importe). Même nécessité, en ce qui concerne l'immunisation active de l'homme et des animaux.

Les caractères biologiques ne sont donc pas « meilleurs » que les caractères antigènes et *vice versa*. Tous deux doivent faire l'objet de recherches parallèles, également indispensables.

QUELQUES COLORANTS
ET PROCÉDÉS DE COLORATION

par L. TRIBONDEAU.

Mon but, en écrivant le présent article, est de rassembler et de préciser quelques travaux sur les colorations microscopiques que j'ai effectués au cours de ces dernières années, pour la plupart en collaboration avec MM. M. Fichet et J. Dubreuil (1).

I. — Règles générales applicables aux colorations par tous les éosinates de méthylène.

Les éosinates de méthylène (Laveran, bi-éosinate, azéo, Leishman, Giemsa, etc...) permettent d'obtenir des colorations microscopiques remarquables, à la condition d'observer rigoureusement quelques règles générales de technique relatives à l'eau, à la verrerie et aux manipulations des préparations.

1° **L'eau.** — Le choix de l'eau a une importance capitale. Il ne suffit pas qu'elle soit distillée, elle doit aussi être parfaitement pure et neutre. Or bien des eaux distillées du commerce ne réalisent pas ces conditions. Le plus souvent, l'impureté n'est pas décelable par les réactifs chimiques ordinaires (tournesol, phtaléine), mais les globules rouges du sang se chargent de la mettre en évidence, car leur coloration, qui tire sur le jaune brun quand l'eau est neutre, tourne au bleu ou au rouge en cas d'alcalinité ou d'acidité. Une eau impure doit être rectifiée, surtout quand elle est acide, parce que, si une légère alcalinité est encore compatible avec l'obtention de préparations utilisables, une acidité même légère a par contre une influence désastreuse. En principe, il serait même préférable de ne pas attendre les indications fournies par les globules rouges et de

(1) Voir *Index bibliographique.*

n'employer pour les colorations par les éosinates que de l'eau distillée épurée. Ce n'est d'ailleurs pas là une bien grande complication, puisqu'il suffit d'additionner l'eau d'un peu de carbonate d'argent (par exemple 0 gr. 05 par litre) et de la redistiller : le sel d'argent fixe énergiquement les acides, aldéhydes, chlorures, etc...

Le carbonate d'argent s'obtient en versant, dans une solution aqueuse de nitrate d'argent à 10 p. 100 par exemple, de la solution aqueuse de carbonate de soude à 20 p. 100 jusqu'à cessation de précipitation. Le précipité est lavé abondamment par adjonction d'eau distillée, agitation et décantation successives et répétées. Finalement il est utilisé encore humide, ou jeté sur filtre et desséché.

Quant à la distillation elle-même, elle peut être réalisée à peu de frais dans les laboratoires. Elle demande, pour tout matériel spécial, un tube réfrigérant (genre Liebig ou Aubin); à la rigueur on peut transformer en manchon réfrigérant un verre de lampe fermé avec deux bouchons à deux trous. On choisira, pour collecter la vapeur, un tube coudé du diamètre du petit doigt, à branche verticale assez longue et terminée par une extrémité taillée en biseau, de façon à empêcher les entraînements d'eau; dans le même but, on mettra dans le fond du ballon servant de cornue une couche de morceaux de verre qui s'opposera à une ébullition tumultueuse.

L'eau distillée purifiée sera conservée en flacons bien bouchés. Elle doit servir à *tous* les besoins des colorations sans exception, c'est-à-dire non seulement à la dilution des colorants mais encore au lavage des préparations.

2° Verrerie. — Le nettoyage des lames de verre, boîtes, cuvettes, pipettes et autres objets servant à plusieurs reprises est effectué d'habitude à l'aide de solutions acides ou alcalines fortes; il est donc nécessaire de le faire suivre d'un rinçage à l'eau minutieux et prolongé, puis d'un bon essuyage, pour éviter d'introduire dans les solutions colorantes ou dans l'eau distillée destinée aux lavages, des substances qui modifieraient leur réaction.

Une bonne précaution consiste à réserver pour les colorations par les éosinates un lot de récipients et de pipettes. Quant aux lames porte-objets, on aura soin de toujours les laver à l'alcool et de les bien essuyer avec un linge fin avant d'étaler le sang à leur surface; en outre, il est préférable d'éliminer les lames plus ou moins ternies et érodées, parce que les éosinates se fixent énergiquement sur tous les défauts du verre.

3° **Manipulation des préparations.** — Il faut éviter de déposer le sang sur des lames chauffées, de l'étaler en couche trop épaisse, de le laisser sécher trop lentement ou en milieu très humide, de le fixer par la chaleur ou par des réactifs quels qu'ils soient, enfin de le colorer trop longtemps après avoir été prélevé. Ce sont, en effet, là autant de causes d'insuccès qui agissent, soit en altérant les éléments microscopiques, soit en modifiant leurs affinités pour les colorants.

Il faut, d'autre part, se bien garder de hâter, par quelque moyen que ce soit, la précipitation spontanée des éosinates en présence de l'eau, parce que les préparations ne sont bonnes que si les bains colorants mettent un certain temps à précipiter. Or la précipitation est favorisée : 1° par une évaporation trop grande des solutions alcoolo-glycérinées d'éosinate au moment où on les utilise, pures, pour la fixation des frottis (surtout pendant la saison chaude); 2° par l'addition d'une quantité insuffisante d'eau à ces solutions lors de la coloration proprement dite; 3° par l'agitation des bains colorants. Dans le premier cas, le colorant, du fait de la perte en alcool qu'il a subie, non seulement précipite trop vite mais encore se comporte comme une solution acide, et teinte en rose les hématies; heureusement, un simple couvercle bas, une moitié de boîte de Petri par exemple, placé sur la préparation, réalise une protection très suffisamment efficace. Dans le deuxième cas, la solution précipite, parce que trop riche en éosinate; mais on n'a qu'à s'en tenir, pour les dilutions, aux indications précises fournies par les auteurs. Dans le troisième cas, le remède est encore plus simple : s'abstenir de remuer les bains colorants.

II. — Préparation du bleu Borrel modifiée.

Le bleu Borrel est, comme on le sait, du bleu de méthylène transformé à l'aide d'oxyde d'argent, puis débarrassé de ce corps par filtration. C'est un excellent colorant, utilisé surtout pour la coloration de Laveran, et entrant dans la composition du bi-éosinate. Récemment préparé, il semble contenir surtout du violet de méthylène et du bleu de méthylène non transformé; mais il se modifie en vieillissant, rougit et abandonne un précipité d'azur de méthylène.

On obtiendra un bon bleu Borrel en utilisant la technique suivante.

1° Préparation de l'oxyde d'argent. — Introduire 0 gr. 50 à 1 gramme de nitrate d'argent cristallisé dans un flacon à bouchon de verre d'une contenance supérieure à 150 cent. cubes, préalablement bien nettoyé et rincé à l'eau distillée; ajouter 100 cent. cubes d'eau distillée; dissoudre à froid en agitant.

Verser dans la solution d'argent, en une fois et rapidement, 50 cent. cubes de solution de potasse (oxyde de potassium pur, à l'alcool, 10 grammes; eau distillée, 100 cent. cubes); boucher aussitôt après le flacon, et, le saisissant par le goulot de telle façon que le bouchon ne puisse pas s'échapper, le secouer pendant quelques secondes. Laisser ensuite au repos pendant une minute environ; décanter et rejeter le liquide surnageant trouble et brunâtre; s'arrêter quand on arrive au lourd précipité d'oxyde d'argent qui s'est collecté au fond du récipient.

Verser sur le dépôt, de nouvelle eau distillée; boucher, secouer, laisser reposer, et décanter comme ci-dessus. Recommencer à 3 ou 4 reprises ces opérations de lavage du précipité, et le transvaser dans un ballon.

2° Transformation du bleu de méthylène, — Préparer une solution de 1 gramme de bleu de méthylène médicinal pur français (Saint-Denis; Pharmacie centrale de France), dans 100 cent. cubes d'eau distillée.

La vider sur le dépôt d'oxyde d'argent lavé provenant de 0 gr. 50 de nitrate d'argent si le bleu Borrel est destiné à la coloration de Laveran, ou sur le précipité fourni par 0 gr. 75 à 1 gramme de nitrate d'argent si le bleu Borrel doit servir à la fabrication du bi-éosinate.

Bien mélanger; chauffer au bain-marie en agitant de temps en temps; surveiller le changement de couleur à partir du moment où le bain entre en ébullition. Il faut obtenir une teinte d'un beau violet bleu, sans excès de rouge, indice d'une transformation trop grande. Le bleu Borrel destiné à la préparation du bi-éosinate doit être d'un violet un peu plus rouge que celui destiné à la coloration de Laveran. L'appréciation exacte de la teinte favorable réclame une certaine habitude de cette manipulation. Elle est obtenue en quelques minutes d'ébullition. Il vaut mieux s'arrêter à une teinte trop bleue que de dépasser le but; on en est quitte pour laisser ensuite le colorant mûrir pendant quelques jours à la température ordinaire.

Filtrer pour éliminer l'oxyde d'argent.

III. — Coloration de Laveran modifiée.

La méthode originale de Romanovsky utilisait deux solutions aqueuses, l'une de bleu de méthylène devenue alcaline par vieillissement en récipient de verre, l'autre d'éosine, qui, mélangées en proportions convenables, donnaient naissance à un éosinate possédant la propriété de colorer la chromatine des protozoaires, alors que ni l'éosine, ni le bleu n'avaient ce pouvoir. Mais l'activité du mélange était très variable suivant la qualité du bleu.

Laveran a eu le grand mérite de préconiser un bleu d'action beaucoup plus constante : le bleu Borrel. Sa méthode de coloration donne des préparations de parasites du sang très belles et très instructives. Toutefois, elle est moins employée depuis que les solutions alcooliques d'éosinates permettent d'obtenir plus facilement des colorations complètes.

J'ai utilisé pendant longtemps la coloration de Laveran, et j'ai trouvé qu'il y a avantage 1° à se servir de bleu Borrel fabriqué comme il a été dit plus haut, et d'une éosine française au lieu d'une éosine de la fabrique de Höchst; 2° à rechercher préalablement, par une *épreuve de précipitation* appropriée, les proportions dans lesquelles les deux colorants doivent être mélangés.

Épreuve de précipitation. — Elle consiste à disposer sur un porte-tubes 10 petits tubes, dans lesquels on distribue, à l'aide d'une pipette donnant d'assez grosses gouttes : 1° de la solution d'éosine française (Saint-Denis) à 1 p. 1.000 dans l'eau distillée, à doses croissant d'une goutte par tube (soit : 1 goutte dans le premier tube, 10 dans le dernier); 2° du bleu Borrel à la dose uniforme de 1 goutte par tube. On mélange aussitôt en secouant les tubes, puis, sans perdre de temps, on prélève dans chacun d'eux, à l'aide d'une anse de platine et en commençant par le plus pauvre en éosine, une goutte du mélange qu'on dépose sur une lame de verre. On s'arrête au premier tube où l'on constate l'existence d'un précipité. On fait un deuxième prélèvement 10 ou 15 minutes après le précédent et on recherche de la même façon dans quel nouveau tube commence le précipité.

C'est entre les deux tubes ainsi déterminés que se trouvent les meilleurs mélanges colorants. En deçà et au delà, les mélanges colorent mal parce qu'ils précipitent trop lentement ou trop vite. Les proportions optima d'éosine et de bleu sont, en général, celles du mélange contenu dans le tube précédant de deux rangs celui où l'on a constaté la première précipitation immédiate. Ces proportions sont le plus souvent : 4 parties de solution d'éosine à 1 p. 1.000 pour 1 partie de bleu Borrel.

Mode d'emploi des colorants. — Les préparations de sang sont fixées à l'alcool absolu (5 minutes).

Prenons pour exemple le cas où on utilise une boîte de Laveran à 3 places. Mesurer 20 cent. cubes d'eau distillée; les verser, par moitiés, dans 2 verres à pied. Ajouter dans l'un 1 cent. cube de bleu Borrel, et dans l'autre la proportion optima d'éosine (Saint-Denis) à 1 p. 1.000 (ordinairement 4 cent. cubes). Vider la solution de bleu dans celle d'éosine, et transvaser immédiatement le mélange dans la boîte de Laveran. Plonger dans ce bain les préparations face enduite en bas, après avoir ratissé le

voile de surface. Laisser colorer pendant environ 20 minutes, sans agiter, et à froid, pour les recherches ordinaires ; prolonger le contact pendant 30 minutes et, de préférence, dans l'étuve à 37°, si l'on veut mettre en évidence certains détails difficiles à colorer, tels que les granulations de Schüffner. Laver à l'eau distillée. Sécher rapidement au papier filtre, et en s'aidant modérément d'une flamme.

Résultats. — Les préparations ne diffèrent de celles que donne la méthode classique de Laveran, que par leur finesse et leur propreté qui m'ont semblé plus grandes.

IV. — Méthode originale pour la fabrication de l'azur et du violet de méthylène.

La technique de Giemsa pour la fabrication de l'azur et du violet de méthylène purs ayant été gardée secrète, les laboratoires français étaient jusqu'ici tributaires des maisons allemandes pour ces produits et les solutions colorantes dans la composition desquelles ils entrent.

J'ai fait connaître récemment une méthode très simple de préparation qui nous délivre de cette sujétion.

Elle consiste à faire agir sur une solution de bleu de méthylène un réactif énergique et volatil, l'ammoniaque : le bleu est décomposé en azur qui précipite, et en violet qui reste dissous. Une filtration sépare les deux éléments, qui sont ensuite débarrassés complètement de l'ammoniaque par dessiccation. L'azur ainsi obtenu est-il identique à celui de Giemsa ? Ce n'est pas probable si on en croit la dénomination de chlorhydrate d'azur qui a été donnée à ce dernier; mais il le vaut bien, et c'est là l'important. On trouvera ci-après quelques précisions sur la préparation dont le principe vient d'être exposé.

Faire une solution à 1 p. 100 de bleu de méthylène médicinal pur français (Saint-Denis) dans l'eau distillée. Lui ajouter 5 à 10 p. 100 d'ammoniaque liquide. Mélanger en ballon de verre. Chauffer au bain-marie jusqu'à ébullition du bain; il se forme un abondant précipité. Filtrer à chaud sur papier plissé.

Mettre le filtrat à évaporer en large cuvette photographique, à l'étuve vers 37°-40°. Le résidu de la dessiccation, recueilli par grattage, est du violet de méthylène pratiquement pur.

Un peu du précipité est tombé sur le filtre, mais la plus grande partie est restée adhérente aux parois du ballon. Abandonner à l'air, filtre et ballon débouché, pendant au moins 24 heures, de préférence à la glacière pour éviter l'évaporation du liquide d'imprégnation. Dans ces conditions, on voit le précipité se colorer de plus en plus intensément en bleu noir. Sa transformation achevée, le reprendre avec de l'eau distillée, dans laquelle il se dissout alors facilement. Filtrer. Mettre ce nouveau filtrat à évaporer en large cuvette comme le premier. Le résidu de la dessiccation, recueilli par grattage, est de l'azur de méthylène pur.

Une manipulation bien faite doit, en fin de compte, donner des quantités à peu près égales de poudre de violet et de poudre d'azur à l'ammoniaque.

V. — Préparation d'un nouveau colorant : le bleu polychrome a l'ammoniaque.

Le bleu polychrome à l'ammoniaque est un mélange de 2 solutions aqueuses à 1 p. 100, l'une d'azur, l'autre de violet à l'ammoniaque. La proportion optima des deux éléments est, ordinairement, de 1 partie de solution d'azur pour 3 parties de solution de violet. Elle est fixée par tâtonnements, en prenant pour critérium des colorations de crachats muqueux, et de ces mêmes crachats additionnés d'un peu de sang défibriné; le mucus doit être violet rouge, les hématies vertes, les protoplasmes cellulaires bleus, et la sérosité violet bleu (examen à la lumière artificielle).

VI. — Nouveaux procédés d'obtention des éosinates de méthylène.

Les éosinates de méthylène étant insolubles dans l'eau, on les dissout dans de l'alcool absolu, auquel on ajoute une certaine proportion de glycérine pour assurer la stabilité des solutions.

On peut fabriquer ces éosinates en combinant l'éosine soit au bleu de méthylène ordinaire, soit à l'un quelconque des dérivés de ce bleu à la condition que la base ayant servi à sa préparation puisse être éliminée; c'est le cas du bleu Borrel, de l'azur et du violet de méthylène.

Deux méthodes différentes sont à considérer.

1° Préparation par combinaison directe dans l'alcool glycériné. — On fait deux solutions à 1 p. 100 dans l'alcool glycériné, l'une d'éosine française (Saint-Denis), l'autre du bleu choisi. On verse, peu à peu, la seconde dans la première en agitant, et en observant le changement de teinte jusqu'à obtention d'un mélange neutre.

On peut contrôler les progrès de la neutralisation de l'éosine par le bleu de la façon suivante. On cesse d'ajouter du bleu; on remue bien le mélange et, à l'aide de l'agitateur de verre, on en prélève une petite goutte qu'on étale en traînée jusqu'à évaporation de l'alcool, laquelle se reconnaît à un

changement brusque de coloration. On fait alors tomber sur une extrémité de la traînée une grosse goutte d'eau distillée neutre; puis on penche la lame de manière que la goutte d'eau glisse sur la traînée et la dépasse. Si elle s'est, dans ce trajet, chargée de rose ou de lie-de-vin, le mélange est encore trop riche en éosine; si elle est restée incolore ou à peine teintée de mauve, le mélange est neutre; si elle est colorée en violet où le bleu prédomine nettement, il y a excès de bleu dans le mélange. En se guidant sur ces indications, on arrive à mettre en présence les doses d'éosine et de bleu nécessaires pour obtenir un mélange neutre.

Le mélange est ensuite abandonné à lui-même pendant plusieurs jours de façon que la combinaison des deux éléments ait tout le temps de s'effectuer.

2° Préparation par précipitation préalable. — On fait deux solutions dans l'eau distillée, l'une d'éosine française (Saint-Denis) à 1 p. 1.000, l'autre du bleu choisi à 1 p. 100.

On pratique ensuite une *épreuve de précipitation* dans le genre de celle indiquée à propos de la coloration de Laveran. On se sert de tubes à essai étroits, dans lesquels on distribue d'abord de la solution d'éosine en commençant par 1 goutte et en augmentant d'une goutte par tube. Puis, dans chaque tube, on ajoute 1 goutte de bleu. Bien mélanger; laisser reposer.

Au bout d'un quart d'heure au plus tôt, ou, mieux, après plusieurs heures, examiner les tubes; pour cela, l'opérateur, tourné vers le jour, les inclinera en avant au-dessus d'un fond blanc. La couleur du liquide de surface apparaîtra différente dans la série des tubes : violette dans les premiers, bleue dans les suivants, et enfin rouge lie de vin (excès d'éosine) dans les derniers.

Les proportions les plus avantageuses pour la combinaison sont celles du dernier tube où le liquide de surface est coloré en bleu (dans le tube suivant la coloration tire franchement sur le rouge).

Ces données étant acquises, introduire dans un ballon un volume déterminé de solution d'éosine; ajouter le volume approprié de solution de bleu; mélanger. Chauffer au bain-marie jusqu'à ébullition du bain, pour activer la précipitation. Vider dans un grand verre conique.

Rejeter le liquide qui surnage après quelques heures de repos. Transvaser le fond (liquide et précipité en suspension) dans un ou plusieurs tubes à centrifugation; centrifuger; décanter. Ajouter de l'eau distillée, mélanger, centrifuger, et décanter à nouveau à une ou deux reprises pour laver l'éosinate.

Reprendre l'éosinate, réuni sous forme de culot au fond des tubes à centrifugation, en le dissolvant avec une quantité d'alcool éthylique absolu glycériné égale à 4 fois le volume de la solution de bleu qui a été employée pour la préparation du précipité.

Laisser reposer pendant plusieurs jours le colorant obtenu, car la solution alcoolique d'éosinate n'acquiert pas immédiatement sa stabilité et son électivité définitives.

VII. — Préparation originale d'un mélange d'éosinates : le bi-éosinate.

Le bi-éosinate est un mélange neutre d'éosinate de bleu Borrel et d'éosinate de bleu ordinaire, tous deux en solution

dans l'alcool éthylique absolu glycériné à 1 p. 10 (alcool, 90; glycérine, 10).

Ces deux solutions d'éosinates sont préparées séparément comme il est dit au chapitre VI, paragraphe 2, l'une avec du bleu Borrel (voir chapitre II), l'autre avec du bleu de méthylène médicinal pur non transformé. Notons en passant que le bleu Borrel demande, pour précipiter, une quantité d'éosine beaucoup moindre que le bleu de méthylène ordinaire.

L'éosinate de bleu Borrel donne, à lui seul, des colorations de sang intéressantes; il colore notamment très bien la chromatine des parasites et les granulations leucocytaires; mais il a le défaut de précipiter très vite une fois mélangé à l'eau, et de donner des bleus protoplasmiques un peu faibles.

Par contre, l'éosinate de bleu ordinaire est un colorant très incomplet, qui n'a pas d'action sur la chromatine des parasites; mais il a l'avantage d'être plus stable que le précédent en présence de l'eau et de donner de beaux bleus.

L'expérience a montré que ces deux éosinates se complètent l'un l'autre.

Les proportions optima de leur association sont fixées par tâtonnements, en comparant entre elles des colorations de sang obtenues avec des mélanges divers. En règle générale, il faut moins de solution d'éosinate de bleu ordinaire que de solution d'éosinate de bleu Borrel (en moyenne 3 parties du premier pour 5 du second).

La teneur globale en colorant de la solution mixte ainsi préparée est quelquefois trop forte; on s'en aperçoit à l'usage, parce qu'elle précipite un peu trop vite après dilution avec la proportion habituelle d'eau distillée; on est ainsi amené à l'étendre d'alcool glycériné.

VIII. — Préparation d'un nouvel éosinate d'azur : l'azéo.

L'azéo est un éosinate d'azur additionné d'un excès de colorant basique (azur libre), tous deux en solution dans l'alcool éthylique glycériné à 1 p. 4 (alcool, 75; glycérine, 25).

La solution d'éosinate neutre d'azur est préparée par combinaison directe d'éosine française (Saint-Denis) et d'azur à l'ammoniaque, tous deux en solution à 1 p. 100 dans l'alcool glycériné à 1 p. 4 (voir chapitre VI, paragraphe 1).

Au bout de quelques jours de maturation, on ajoute à 8 parties de cette solution d'éosinate, 2 parties de la solution d'azur qui a servi à sa fabrication.

IX. — Utilisation du bleu polychrome a l'ammoniaque et d'une solution aqueuse d'azur à l'ammoniaque.

1°. Le bleu polychrome à l'ammoniaque est un colorant vigoureux, stable, jouissant d'une métachromasie très accentuée. Je le trouve préférable à la thionine phéniquée et au bleu de Unna, et je l'ai substitué à ces colorants dans ma pratique journalière.

Il est parfait pour les nombreux examens rapides, dits par coloration simple, pratiqués dans les laboratoires, tels que : contrôle bactériologique des cultures, analyses cyto-bactériologiques des produits pathologiques divers (crachats, pus, écoulements uréthraux, enduits d'ulcérations, sang étalé en traînée épaisse et déshémoglobinisé par l'alcool au tiers pour la recherche des corps en croissant du paludisme, etc...) et des culots de liquides centrifugés (liquides céphalo-rachidiens, pleuraux, ascitiques, sang paludéen hémolysé dans l'alcool au tiers, etc...).

Mode d'emploi. — Étaler les produits sur lames par les procédés ordinaires ; sécher ; fixer à l'alcool absolu. Colorer 30 secondes à 1 minute; laver, sécher. Différencier à l'alcool si la teinte est trop foncée. Examiner à l'immersion et à la lumière artificielle.

Résultats. — Hématies vertes. Noyaux normaux violets ; noyaux altérés rouges. Protoplasmes bleus. Mucus rouge. Microbes bleus ou violets, et très finement colorés.

2°. L'azur à l'ammoniaque peut être utilisé, sous forme de solution aqueuse à 1 p. 100, pour la coloration de produits organiques frais et à l'état liquide (sérosités, mucosités dysentériques, etc...). Il suffit de mélanger une goutte de colorant à une goutte de liquide, de recouvrir d'une lamelle, de luter et d'examiner à l'immersion avec éclairage artificiel. J'ai obtenu ainsi des colorations intéressantes de cellules, d'amibes, etc... La coloration est d'abord progressive, puis régressive; elle est parfois gênée par la réaction chimique des produits.

X. — Méthode originale de coloration au bi-éosinate.

Elle est surtout applicable aux préparations de sang, et tout particulièrement de sang parasité (paludisme, typhus récurrent, trypanosomiase, etc...).

Elle donne aussi de bonnes colorations des spirochètes [suc chancreux, pulpe hépatique (1), etc...] et des cellules des liquides pathologiques (pus, culots de sérosités centrifugées, etc...), mais à la condition que les étalements soient bien minces.

Elle doit être effectuée *sur lames* parce que le bi-éosinate ne se prête pas aux colorations collectives en bains. En effet, dilué de façon à ne précipiter qu'à la longue, un bain de bi-éosinate n'a plus une puissance colorante assez grande, et, si on essaie de le renforcer en ajoutant du colorant, il précipite trop vite.

La méthode de coloration est facile, rapide, et ses résultats sont excellents, si l'eau utilisée est absolument pure et neutre, et si on se conforme, d'une part, au mode d'emploi suivant.

Mode d'emploi du colorant. — Étaler le sang en couche mince (de préférence par le procédé de la carte de visite, ou le procédé des ciseaux). Sécher par agitation à l'air; ne faire agir aucun fixateur.

Délimiter le frottis par un trait tracé avec un crayon à verre ou avec un morceau de paraffine. Puis, à l'aide d'une pipette réservée à cet usage, faire tomber sur le frottis 0 c.c. 2 de bi-éosinate pur (soit 12 gouttes environ); étaler le colorant sur la nappe de sang; abriter aussitôt sous couvercle de boîte de Petri.

Au bout de 3 minutes, pendant lesquelles le bi-éosinate pur a fixé le sang et amorcé la coloration, saisir la lame et l'incliner légèrement de façon à rassembler le liquide le long d'un grand bord.

Faire tomber, goutte à goutte, dans le bi-éosinate 0 c.c. 6 d'eau distillée (soit 12 gouttes environ), chauffée vers 40° en

(1) Les frottis de foie doivent être extrêmement minces; une fois secs, on les dégraisse à fond à l'éther, puis on les colore comme des frottis de sang.

hiver. Mélanger sans tarder par quelques mouvements de roulis. Déposer la lame à plat; ne plus la remuer.

Au bout de 12 minutes environ (25 minutes quand il s'agit d'objets très difficiles à colorer, tels que les spirochètes de la syphilis), entraîner brusquement la solution colorante et son voile de surface avec de l'eau distillée versée en jet sur le talon de la lame. Sécher vite au papier filtre puis en s'aidant modérément d'une flamme.

Résultats. — Colorations fouillées, nuancées, électives. Les globules rouges sont jaunes brun pâle, les noyaux violets ou lie de vin, les protoplasmes bleus; toutes les granulations leucocytaires sont mises en évidence. Les parasites sont teintés en bleu, leur chromatine et leurs flagelles en rouge.

XI. — Nouveau procédé de coloration panoptique au bi-éosinate et a l'azéo.

C'est l'application au bi-éosinate et à l'azéo de la méthode panoptique réalisée par Pappenheim avec le May-Grünwald et le Giemsa.

Les applications et les résultats en sont les mêmes que pour le bi-éosinate seul. Son unique inconvénient, qui est de nécessiter l'emploi de deux colorants, est largement compensé par deux importants avantages. D'abord, ce procédé rend possible la coloration simultanée de plusieurs lames *en bains*; car on peut faire des dilutions d'azéo fort actives et qui, cependant, précipitent très lentement (au bout de 30 à 45 minutes).

Ensuite, les bains d'azéo colorent convenablement des préparations de sang trop épaisses, et des frottis de pus, de matières fécales, etc., dont on tire difficilement parti avec le bi-éosinate.

Technique de la coloration. — Étaler le sang en couche mince; sécher par agitation à l'air; ne pas fixer.

Avec une pipette réservée à cet usage, faire tomber sur le frottis une dizaine de gouttes de bi-éosinate; étaler, abriter aussitôt sous couvercle de boîte de Petri.

Au bout de 3 minutes, pendant lesquelles le bi-éosinate pur a fixé le sang et amorcé la coloration, laver à l'eau distillée.

Faire alors, extemporanément, un bain d'azéo à 1 p. 50 dans

l'eau distillée. En prenant pour exemple le cas où l'on a deux préparations à colorer, mesurer 25 cent. cubes d'eau distillée; les verser dans une boîte de Petri à fond bien plan; faire tomber dans cette eau, avec une pipette réservée à cet usage, 0 c.c. 5 d'azéo (si on préfère compter par gouttes, cela fait sensiblement 1 goutte d'azéo par centimètre cube d'eau); mélanger. Plonger aussitôt dans ce bain les lames encore humides, face enduite en-dessus; ne plus agiter.

Au bout de 12 minutes environ, retirer les préparations; laver rapidement à l'eau distillée. Sécher vite.

N. B. — S'il fallait éclaircir les préparations ou enlever un précipité, plonger les lames une fraction de seconde dans l'alcool à 80° glycériné à 1 p. 10; relaver et sécher très vite. S'il fallait renforcer, replacer les lames dans le bain colorant (utilisable pendant plus d'une demi-heure), sans se préoccuper de la gouttelette d'huile de cèdre mise pour un examen rapide (un lavage au xylol nuirait au renforcement).

— Si on préférait réaliser la méthode panoptique par coloration sur lame, au lieu de la coloration en bain, on remplacerait l'azéo par une solution alcoolo-glycérinée d'éosinate d'azur neutre (voir chapitre VIII) diluée à 1 p. 20 dans l'eau distillée et versée sur la lame (12 minutes de contact). C'est une bonne façon d'utiliser cette solution colorante.

XII. — Utilisation de l'azéo seul.

L'azéo, seul, donne des préparations moins belles que celles où la coloration a été amorcée par le bi-éosinate : les globules rouges ont une teinte verte, et le plasma répandu entre eux est souvent coloré en bleu. Néanmoins, elles sont très suffisantes pour un diagnostic cyto-parasitologique.

La technique est identique à la précédente, sauf qu'on fixe pendant 5 minutes à l'alcool absolu; après quoi on sèche au papier filtre et on plonge dans le bain d'azéo.

XIII. — Procédé simplifié pour la coloration des granulations polaires du bacille diphtérique.

Tout en étant d'une exécution facile et rapide, ce procédé a l'avantage d'utiliser un colorant couramment employé pour la

coloration de Gram : le cristal violet phéniqué, que je conseille de fabriquer comme suit.

Préparation du cristal violet phéniqué. — Broyer 1 gramme de cristal violet de fabrication française dans un mortier; ajouter 2 gr. 50 d'acide phénique neigeux; triturer; laisser liquéfier pendant quelques minutes. Mesurer 10 cent. cubes d'alcool éthylique absolu; en verser une partie dans le mortier et triturer de nouveau pour achever de dissoudre le colorant et l'acide phénique. Transvaser la solution obtenue dans un flacon. Se servir du reste de l'alcool, puis de 90 cent. cubes d'eau distillée (par fractions) pour bien rincer le mortier; recueillir le liquide de rinçage dans le flacon; agiter le tout. Avoir soin de ne filtrer sur papier qu'au moment de remplir les flacons compte-gouttes en service.

Technique de la coloration. — Émulsionner une parcelle de colonie du bacille diphtérique dans une gouttelette d'eau, sur lame porte-objets; étaler, laisser sécher, fixer à l'alcool absolu.

Colorer pendant environ 5 minutes au cristal violet phéniqué. Laver à l'eau ordinaire.

Faire agir une solution de vésuvine à 1 p. 500 jusqu'à ce que la coloration du frottis passe du violet au brun (1 à 2 minutes suivant son épaisseur). Laver à l'eau ordinaire. Sécher.

Résultats. — Les granulations polaires, d'un beau violet noir, tranchent vigoureusement sur le corps jaunâtre des bacilles.

XIV. — Procédé de nitratation des spirochètes modifié.

J'ai complété et réglé le procédé de nitratation de Fontana, de façon à lui permettre d'être appliqué à tous les cas, notamment au diagnostic si important des ulcérations syphilitiques. Le procédé ainsi modifié est connu sous le nom de procédé Fontana-Tribondeau. Il se recommande par la simplicité et la rapidité de son exécution (moins de 5 minutes). Il expose moins à des erreurs que le procédé négatif à l'encre de Chine, de Burri. Il n'a pas la lenteur du procédé à la largine de P. Ravaut, et n'utilise que des produits qu'on peut se procurer facilement. Il permet un diagnostic à distance par l'envoi de frottis sur lames, et ne nécessite aucun outillage spécial, ni aucun déplacement des malades, ce en quoi il est supérieur à l'examen ultramicroscopique.

Recherche des spirochètes de la syphilis. — La nitratation rend des services inestimables en facilitant le diagnostic bacté-

riologique précoce de la syphilis et, par suite, en légitimant l'application immédiate d'un traitement intensif seul capable d'enrayer les manifestations secondaires (contagieuses) et tardives (graves) de la maladie. Mais il ne faut pas oublier que, le plus souvent, les spirochètes de la syphilis ne peuvent plus être décelés dans un chancre qui a été traité activement, en particulier avec l'iodoforme, l'aristol ou le calomel, dont la vogue est malheureusement trop grande.

Aussi devrait-on poser en règle absolue : 1° que *tout chancre, cliniquement dur ou mou, doit être l'objet d'une recherche du spirochète de la syphilis;* 2° que *jusqu'au moment où le prélèvement du suc chancreux en vue de cette recherche aura été effectué, le traitement local doit se borner à des lavages à l'eau bouillie et à des applications de poudres absorbantes inertes* (amidon, talc).

Quand cette règle a été enfreinte et qu'un malade se présente au bactériologiste, ayant subi un traitement local antiseptique, on est le plus souvent obligé de remettre la recherche à plus tard et d'ordonner dans l'intervalle des pansements à l'eau bouillie.

Voici comment il faut procéder pour recueillir le suc chancreux. Tout d'abord, s'il existe plusieurs ulcérations, on s'adressera en premier lieu à celle qui, cliniquement, est la plus suspecte. On prélèvera, non pas l'enduit putrilagineux qui recouvre le chancre, mais le suc contenu dans l'épaisseur même de ses parois, et de préférence, dans les parties les plus indurées. Donc, bien déterger le chancre avec des tampons humides, puis l'assécher. Pratiquer à l'endroit choisi, sur les confins de l'ulcération, en pleine zone envahissante de la lésion, quelques petites scarifications rayonnantes, à cheval sur le chancre et sur sa bordure épidermique, parallèles entre elles, courtes (2 ou 3 millimètres environ), et assez profondes pour faire sourdre du sang.

Pincer, quand c'est possible, le chancre entre deux doigts, et recueillir par raclage, avec l'instrument ayant servi aux scarifications, la sérosité sanglante qui suinte. L'étaler sur lames en couche mince. Si, au début, du sang pur s'écoule en abondance, arrêter l'hémorragie par une légère compression, et ne faire le prélèvement qu'ensuite.

Sécher les frottis par agitation à l'air; *surtout ne pas chauffer et ne pas fixer*, car on ne pourrait plus, ultérieurement, se débarrasser de l'hémoglobine.

— A la période secondaire de la syphilis, la recherche du spirochète de la syphilis dans les ulcérations buccales suspectes peut fixer un diagnostic hésitant. Elle sera pratiquée aussi sur le suc extrait par scarification.

— Enfin j'ai décelé par nitratation les spirochètes de la pulpe du foie du fœtus hérédo-syphilitique, ce qui a son intérêt quand on veut être sûr de la spécificité d'un foie utilisé pour la lipo-déviation du complément (ou réaction de Wassermann). D'autre part, c'est par la nitratation que Levaditi a reconnu la présence de spirochètes dans l'écorce cérébrale de paralytiques généraux, démontrant ainsi la nature syphilitique de leur affection. Dans les deux cas, un peu de pulpe de l'organe est écrasée sur lame en couche aussi mince que possible.

Recherche des autres spirochètes. — Les spirochètes de toute espèce sont colorables par nitratation. J'ai obtenu de très belles préparations avec du sang de typhique récurrent en accès fébrile, avec le pus de la balanite érosive, avec la salive, avec le putrilage de l'angine de Vincent, avec des selles de dysenterie du type Le Dantec...

Les spirochètes de l'ictère hémorragique méritent enfin une mention spéciale, en raison de l'actualité de la maladie qu'ils provoquent. La nitratation les met également bien en évidence dans la pulpe hépatique des cobayes inoculés étalée en couche très mince, et dans le culot des urines humaines préparées de la façon suivante, préconisée par M. Fiessinger: centrifuger 10 cent. cubes d'urines récemment émises dans un appareil électrique à rotation intensive, pendant 10 minutes. Décanter. Homogénéiser le culot par aspirations et rejets successifs à la pipette très fine. En dernier lieu, l'aspirer et en déposer des gouttelettes très petites, à peine étalées, à la surface de lames de verre porte-objets bien nettoyées à l'alcool et sèches. Laisser évaporer, de préférence, à l'étuve à 37°.

Préparation des réactifs. — 3 solutions sont nécessaires :

1° *Solution de formol acétique* (liquide de Ruge) :

Acide acétique pur.	1 cent. cube.
Formol à 40 p. 100, dit du commerce . . .	2 cent. cubes.
Eau distillée.	100 cent. cubes.

2° *Mordant au tanin* :

Tanin à l'alcool ou à l'éther	1 gramme.
Eau distillée.	20 cent. cubes.

Dissoudre le tanin dans l'eau très chaude. Conserver en flacon bien bouché et additionné d'un morceau de camphre pour éviter le développement des moisissures.

3° *Solution de nitrate d'argent ammoniacal* (liquide de Fontana) :

Nitrate d'argent	1 gramme.
Eau distillée.	20 cent. cubes.

Dissoudre à froid. Verser une certaine quantité de cette solution dans un verre à pied très propre. Ajouter peu à peu de l'ammoniaque avec une pipette, en agitant constamment avec une baguette de verre ; il se forme un précipité brunâtre qui fonce progressivement, puis se décolore assez brusquement. A partir du moment où la décoloration commence, on ne versera plus l'ammoniaque que très prudemment, et on s'arrêtera quand la solution est encore légèrement opalescente ; si elle devient eau de roche, ajouter lentement un peu de solution de nitrate d'argent jusqu'à production de la faible opalescence désirée.

Mode d'emploi des réactifs. — Arroser la préparation de solution de formol acétique qu'on renouvelle plusieurs fois, et qu'on laisse agir en tout de 1 à 5 minutes. Insister pour que le frottis soit complètement déshémoglobinisé, car l'hémoglobine accapare le nitrate d'argent, masque les spirochètes et gêne leur coloration. Égoutter.

Quand on a à nitrater du suc d'ulcérations, ce qui est le cas le plus fréquent, il suffit de laver à l'alcool absolu (ou à 80°-95°). Sécher au papier filtre ; ou bien mettre le feu à ce qui reste d'alcool sur la lame et, presque aussitôt, souffler fortement sur elle, de son talon vers son extrémité (de cette façon, et d'un même coup, la flamme est éteinte, le frottis asséché, et une fixation par chauffage modéré réalisée).

Quand il s'agit de frottis d'organes (foie, cerveau, ...), il faut chasser les graisses qui gêneraient l'imprégnation par un triple lavage : à l'alcool, puis à l'éther, et enfin de nouveau à l'alcool.

Recouvrir ensuite abondamment de mordant au tanin; puis promener la préparation sur la veilleuse d'un Bunsen, ou sur toute source de chaleur équivalente, jusqu'à dégagement abondant de vapeur, mais sans faire bouillir, et en évitant que le liquide laisse des parties du frottis à découvert. Retirer alors la préparation de la flamme, et ne rejeter le mordant que 30 secondes après.

Bien laver à l'eau ordinaire, sous robinet (30 secondes environ); rincer ensuite à l'eau distillée; égoutter, inutile de sécher.

Recouvrir le liquide de Fontana, qu'on laisse agir à froid pendant quelques instants jusqu'à ce que la nitratation soit bien amorcée. Rejeter ce liquide, le renouveler, et chauffer comme il a été dit pour le tanin. Retirer ensuite de la flamme et laisser refroidir (15 secondes environ). La préparation doit avoir à ce moment une teinte marron à reflets métalliques.

Laver à l'eau distillée (éviter l'eau ordinaire qui affaiblit la teinte); quelques secondes suffisent. Sécher au papier filtre puis en s'aidant modérément d'une flamme.

Résultats. — Les spirochètes sont colorés en brun jaunâtre ou noirâtre et d'une netteté parfaite.

Se méfier de l'huile de cèdre, qui décolore les préparations; l'enlever au xylol aussitôt l'examen microscopique achevé. Si on voulait étudier longuement une préparation ou la revoir fréquemment, monter dans la glycérine neutre et luter la lamelle.

XV. — Méthode originale de coloration des cils microbiens.

La présence de cils, leur répartition sur le corps microbien, leur nombre sont autant de caractères morphologiques utilisables pour l'identification de germes pathogènes tels que : le vibrion cholérique, le bacille pyocyanique, les bacilles typhiques et paratyphiques, le *Proteus*, etc... Aussi ne s'explique-t-on pas que la recherche des cils soit si peu utilisée pour le diagnostic rapide des microbes, si les procédés de coloration classiques pour les mettre en évidence n'étaient, la plupart, d'une exécution délicate et infidèles dans leurs résultats.

A condition de se conformer très exactement aux indications fournies, la méthode que je vais décrire donne de bonnes pré-

parations. Elle a l'avantage de ne nécessiter aucune manipulation longue et difficile.

Étalements microbiens. — Les cultures en milieux liquides ne conviennent pas. Par contre, presque tous les milieux solides habituels donnent des colonies utilisables pour la recherche, par exemple : gélose ou bouillon ordinaire, gélose lactosée tournesolée, gélose de Dieudonné, etc... Mais le milieu de choix est la solution de panse Martin (sans viande), gélosée à 2 p. 100, et de réaction légèrement alcaline.

Prélever, de préférence vers la 15e heure d'incubation à 37°, une parcelle de colonie avec une pipette Pasteur à effilure boutonnée. L'émulsionner doucement dans de l'eau distillée jusqu'à obtention d'un louche peu accentué et homogène.

Choisir des lames porte-objets neuves (à défaut, faire bouillir les lames usagées dans une solution aqueuse de bichromate de potasse à 50 p. 1.000 additionnée de 100 cent. cubes d'acide sulfurique; puis les laver abondamment). Nettoyer les lames à l'alcool; les sécher avec un linge fin très propre.

Déposer sur la lame, près d'une extrémité, une très grosse goutte d'émulsion microbienne. Incliner la lame jusqu'à la verticale de manière que la goutte glisse vers l'extrémité la plus éloignée, en abandonnant derrière elle une large traînée humide. La lame étant maintenue verticale, réaspirer à la pipette, immédiatement et le plus complètement possible, l'excès d'émulsion collecté à son extrémité inférieure. Laisser sécher, toujours dans la même position.

Au lieu du procédé précédent, qui mériterait le nom de « procédé de la traînée », on peut employer celui des « gouttes réaspirées » consistant à déposer sur la lame de verre placée horizontalement plusieurs gouttes d'émulsion séparées, et à réaspirer rapidement au centre de chacune la plus grande quantité possible de liquide avec une pipette très effilée.

Au moment de les colorer, les préparations microbiennes sont fixées en les arrosant d'alcool absolu dont on enflamme les dernières gouttes; presque aussitôt, on souffle fortement sur la lame, de son talon vers son extrémité, ce qui, du même coup, éteint la flamme, assèche le frottis et évite un chauffage exagéré. Laisser refroidir avant de colorer.

Préparation des réactifs. — Deux réactifs sont nécessaires : une solution mordançante à l'alun-tanin et une solution colorante au cristal violet. Leur préparation demande un peu d'attention, car *c'est d'elle surtout que dépend la réussite des colorations.*

1° *Mordant à l'alun-tanin.* — Faire une solution saturée d'alun, à raison de 12 grammes d'alun de potasse pulvérisé au mortier, pour 100 cent. cubes d'eau distillée chaude; laisser reposer tranquillement, au frais, pendant une bonne journée, de façon que l'excès d'alun ait le temps de cristalliser: décanter et filtrer.

Préparer, d'autre part, une solution, de tanin, à raison de 10 grammes de tanin à l'éther (ou à défaut à l'alcool) pour 100 cent. cubes d'eau distillée chaude.

Mélanger les deux solutions précédentes dans la proportion de 2 volumes de solution d'alun pour 1 volume de solution de tanin. Chauffer le mélange à 120°, dans l'autoclave, pendant une demi-heure (important, car sans cette précaution, certains tanins sont inutilisables). Filtrer chaud, sur papier filtre, au sortir de l'autoclave; refiltrer après refroidissement s'il existe un trouble. Le liquide brun obtenu constitue le mordant.

2° *Colorant au cristal violet.* — Faire une *solution alcoolique mère* de cristal violet à $\frac{1}{20}$. Pour cela, pulvériser le cristal violet au mortier, verser dans un flacon, ajouter 20 cent. cubes d'alcool éthylique absolu par gramme de poudre.

Se servir de cette solution mère pour préparer, en petite quantité, 3 solutions plus étendues, à $\frac{1}{200}$, $\frac{1}{100}$ et $\frac{1}{50}$, qui permettront de trouver le titre de la solution optima à employer pour les colorations. Par exemple :

Sol. mère,	1 vol. +	alc. éthylique abs..	9 vol. =	colorant	à 1 p. 200
—	2 vol. +	—	8 vol. =	—	à 1 p. 100
—	4 vol. +	—	6 vol. =	—	à 1 p. 50

Rechercher, par tâtonnements, quelle est, de ces 3 solutions colorantes, celle qui convient le mieux.

Pour cela, verser dans une casserole métallique de ménage d'enfant, ou dans une petite capsule de porcelaine, 5 cent. cubes de mordant, puis 0 c.c. 5 de l'une des solutions colorantes précédentes (mesurer avec deux pipettes graduées appropriées). Un tour pour mélanger. Chauffer au bec Bunsen ou à toute autre grosse flamme équivalente. Aussitôt l'ébullition obtenue, sortir de la flamme, donner un tour et verser sur la lame portant les microbes, de façon à recouvrir abondamment, d'un seul coup, la surface à colorer. Laisser agir une vingtaine de secondes, trente au plus. Puis, laver à l'eau ordinaire, versée brusquement sur le talon de la lame, de façon à entraîner le colorant avec sa pellicule de surface, qui pourrait adhérer à la préparation si on rejetait le colorant avant de laver. Égoutter, sécher au papier filtre, puis en s'aidant d'une flamme.

Procéder de la même façon pour les 2 autres solutions colorantes, en ayant soin, après chaque essai, d'enlever la couche de violet adhérente aux parois de la casserole ou de la capsule en y faisant bouillir un peu de mordant à l'alun-tanin, de la rincer à l'eau ordinaire, et de l'essuyer.

Comparer entre eux les résultats obtenus : 1° au point de vue de la rapidité de l'apparition du précipité; 2° au point de vue de l'imprégnation des cils.

1° Une observation attentive du colorant au cours même de son emploi permet de reconnaître la solution la plus favorable à ce qu'*elle commence à précipiter dès qu'elle a été versée sur la lame ou dans les 5 secondes qui suivent.* Un colorant qui contient déjà un précipité bien apparent au moment où on le verse sur la lame, est trop riche en cristal violet; un colorant qui tarde à précipiter une fois versé est trop pauvre en cristal violet; dans les deux cas il n'est pas bon.

2° Un examen microscopique des préparations vient ensuite compléter l'observation précédente, en montrant quelle est celle qui présente à la fois les cils le mieux colorés et le fond le moins encombré de précipités.

— Cette épreuve terminée, on sait à quel titre il faut ramener la solution alcoolique mère pour la transformer en *solution colorante optima.* Il est exceptionnel d'avoir à essayer des solutions plus étendues que 1 p. 200 ou plus concentrées que 1 p. 50 pour acquérir cette notion.

— D'ordinaire, c'est la solution alcoolique de cristal violet à 1 p. 100 qui remplit les conditions requises.

— Le résultat du titrage est valable ultérieurement pour de nouvelles solutions, à condition de se servir toujours du même lot de produits : alun, cristal violet et surtout tanin.

Mode d'emploi des réactifs. — La technique de coloration des préparations ne diffère en rien de celle qui a été indiquée pour éprouver les solutions de cristal-violet. Donc : additionner 5 cent. cubes de mordant de 0 c.c. 5 de solution optima de cristal-violet; porter le mélange à l'ébullition; verser bouillant sur les microbes; laisser agir environ 20 secondes; laver; sécher.

Nettoyer le récipient en y faisant bouillir du mordant et en le rinçant à l'eau ordinaire, après chaque coloration.

Résultats. — Les microbes sont colorés en violet foncé, les cils en violet un peu plus pâle. Tous les cils, à quelque espèce microbienne qu'ils appartiennent, sont colorables par cette méthode.

Il y a toujours un certain précipité violet sur le fond de la préparation, mais en de nombreux endroits il fait défaut ou ne gêne pas.

— On peut obtenir des cils aussi intensément colorés que les microbes en utilisant un mordant formé de solution d'alun et de tanin à parties égales, ce qui entraîne l'emploi d'une solution colorante optima plus riche en cristal-violet (à 1 p. 50 généralement), mais le fond est souvent encombré de précipités.

— Une préparation où les cils sont trop pâles, le fond étant resté propre, peut être renforcée par virage au brun noir dans

de l'eau distillée additionnée d'une petite quantité de liquide de Fontana; laver ensuite à l'eau *distillée*; sécher.

— Inversement, une préparation à fond surchargé, mais où les cils sont fortement colorés, peut être corrigée par affaiblissement en versant sur la lame de la solution tannique dédoublée (donc à 5 p. 100). On chauffe doucement en promenant la préparation pendant quelques secondes au-dessus d'une petite flamme; on lave brusquement dès que la teinte violette a un peu pâli, et on sèche.

— Il arrive que, quelque soin qu'on apporte dans l'exécution de la méthode, les cils microbiens de certaines cultures ne se colorent pas. Ces insuccès sont imputables aux microbes eux-mêmes, qui, dans ces colonies, sécrètent autour d'eux des substances qui empêchent la coloration. Le mieux est alors de réensemencer les germes à colorer et de faire plusieurs préparations avec des colonies d'âges différents entre six heures et vingt-quatre heures.

XVI. — Préparation d'une nouvelle hématéine : l'hématéine a l'argent.

L'hématéine alunée ou hémalun est le colorant nucléaire le plus répandu et le plus commode pour les préparations histologiques et histo-pathologiques.

Or les solutions d'hémalun en usage ont l'inconvénient de n'acquérir leurs propriétés électives qu'au bout d'un certain temps de maturation, puis de les perdre parce qu'elles continuent à se transformer. Pour assurer la conservation du colorant, Grübler fabrique un hämalaun sec; mais ce produit n'est pas très puissant, et il s'altère assez vite une fois en solution.

L'hématéine à l'argent que j'ai obtenue par action de l'oxyde d'argent sur l'hématoxyline possède la propriété de se conserver indéfiniment, et de donner par addition d'eau alunée un colorant immédiatement utilisable et très stable.

1° Préparation de l'oxyde d'argent. — Ne diffère en rien de celle indiquée pour le bleu Borrel. (Voir chapitre II, 1°.)

2° Transformation de l'hématoxyline. — Dissoudre 2 gr. 50 d'hématoxyline de fabrication française dans 50 cent. cubes d'alcool éthylique absolu.

Vider cette solution sur le précipité d'oxyde d'argent fourni par 1 gramme de nitrate d'argent, dans un ballon à long col. Chauffer au bain-marie en

agitant de temps à autre le récipient, et jusqu'à ébullition de la solution alcoolique. Celle-ci a alors acquis une coloration orange foncée, indice de la transformation de l'hématoxyline en hématéine à l'argent. Filtrer sur papier. Garder en flacon bien bouché.

XVII. — Coloration a l'hémalun-éosine modifiée.

Elle fournit de très bons résultats pour les coupes histologiques courantes, et pour l'étude cytologique de divers liquides organiques, principalement en vue de la recherche des cellules éosinophiles (sang, crachats, culots de centrifugation de liquides organiques pathologiques, pus, etc...).

Coupes. — Les pièces, incluses à la paraffine, sont débitées en coupes minces, étalées sur l'eau tiède, déposées sur lames, et séchées à l'étuve. Enlever la paraffine par action successive du xylol, de l'alcool, et de l'eau.

Frottis. — Sang, crachats, culots, pus, etc... sont étalés sur lames par les moyens habituels. Sécher à l'étuve. Fixer à l'alcool; sécher.

Préparation des réactifs :

1° *Hémalun à l'argent.* — Suivant la consommation qu'on doit en faire, préparer une certaine quantité d'hémalun à l'argent en versant dans une partie d'hématéine à l'argent (solution alcoolique) 20 parties d'eau alunée :

Alun de potasse	50 grammes.
Eau distillée	1.000 cent. cubes.

Le mélange vire aussitôt au violet.

2° *Solution d'éosine.*

Éosine à l'eau dite française (Saint-Denis)	0 gr. 50
Alcool absolu	50 cent. cubes.
Eau distillée	50 cent. cubes.

Mode d'emploi des réactifs. — Recouvrir la coupe ou le frottis d'hémalun à l'argent filtré. Au bout de deux minutes environ, laver à l'eau ordinaire.

Recouvrir en second lieu de solution d'éosine. Au bout d'une à deux minutes pour les coupes, de 15 à 20 secondes seulement pour les frottis, laver à l'eau ordinaire.

Pour les coupes, terminer par montage au baume sous

lamelle (alcool absolu, xylol, baume du Canada au xylol). Pour les frottis, sécher au papier filtre puis en s'aidant modérément d'une flamme.

Résultats. — Les noyaux sont colorés très électivement en violet; les protoplasmes et formations tissulaires sont roses; les granulations éosinophiles se distinguent très nettement.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

Tribondeau. — Diagnostic microscopique du chancre induré. *Gazette hebdomadaire des Sciences médicales de Bordeaux*, 13 octobre 1912.

— Coloration des tréponèmes du chancre syphilitique. Son importance au point de vue du diagnostic et du traitement précoce de l'avarie. *Archives de médecine et de pharmacie navales*, février 1913.

— Recherche du tréponème de Schaudinn dans les ulcérations, par le procédé Fontana-Tribondeau. *Journal des Praticiens*, 20 juin 1914.

Tribondeau, Fichet et Dubreuil. — Procédé de coloration des liquides organiques et de leurs parasites. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1er avril 1916.

— Nouvelle technique de coloration des coupes par l'hémalun-éosine. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1er avril 1916.

— Méthode de coloration des cils microbiens. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 22 juillet 1916.

Tribondeau. — Étalement du sang sur lames de verre porte-objets par le « procédé des ciseaux ». *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 18 novembre 1916.

— Sur le mode d'emploi du bi-éosinate. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 2 décembre 1916.

Tribondeau et Dubreuil. — Nouveaux colorants pour microscopie dérivés du bleu de méthylène. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 2 avril 1917.

Tribondeau. — L'eau distillée pour colorations microscopiques. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 31 mars 1917.

Tribondeau et Dubreuil. — Procédé de coloration des granulations polaires du bacille diphtérique. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 31 mars 1917.

— Deux procédés pour la recherche rapide des croissants dans le sang des malades suspects de paludisme. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 19 mai 1917.

— Coloration et nitration des spirochètes ictérigènes dans les frottis de foie de cobaye. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 19 mai 1917.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

Ouvrage reçu par les ANNALES :

Laboratory Manual in GENERAL MICROBIOLOGY

Prepared by the
Laboratory of Bacteriology, Hygiene and Pathology
Michigan Agricultural College.

FIRST EDITION

NEW-YORK : John Wiley & Sons, Inc.
LONDON : Chapman & Hall, Limited.
1916

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXXI. — 1917. Septembre. — N° 9.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX



PARIS

MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : 18 francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : 20 francs.

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

SOMMAIRE DU N° 9

BULLETIN

DE LA

Société de Pathologie exotique

Siège de la Société : Institut Pasteur, Paris

Paraît 10 fois par an, 15 jours après chaque séance qui a lieu le 2e mercredi du mois, sauf en août et septembre.

Le volume de 1915, qui atteint 800 pages, avec figures dans le texte et planches hors texte, ne le cède en rien, malgré les circonstances, à ceux des années précédentes.

PRIX DE L'ABONNEMENT :

France : 18 fr. — Union postale : 20 fr.

31e ANNÉE SEPTEMBRE 1917 N° 9

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

FÉCONDATION ET PHAGOCYTOSE (1)

par JACQUES LOEB

(Rockefeller Institute for Medical Research, New-York.)

I

Le thème de ce travail a été choisi en rapport avec les travaux du grand savant que nous voulons honorer par la présente publication jubilaire. L'idée que la pénétration du spermatozoïde dans l'œuf peut être considérée comme une sorte de phagocytose devrait n'être pas neuve. Mais, dans les sciences de la nature, il est toujours imprudent de se laisser guider par des analogies, au lieu de faits. L'auteur va communiquer, dans ce qui suit, des observations qui gagnent en clarté, si l'on interprète l'absorption du spermatozoïde par l'œuf comme une sorte de phagocytose.

On sait que, d'une manière générale, ce sont seulement les spermatozoïdes de la même espèce qui peuvent pénétrer dans un œuf et non ceux provenant d'espèces différentes. Ainsi l'œuf de l'Oursin peut aisément être fécondé par des sper-

(1) Traduction française de M. CAULLERY.

matozoïdes d'Oursins de la même espèce ou d'espèces voisines, mais non pas — ou seulement d'une façon exceptionnelle — par le sperme de beaucoup d'autres Echinodermes, tels que, par exemple, les Étoiles de mer. Il y a onze ans, l'auteur a trouvé une méthode par laquelle il réussit, à coup sûr, à féconder les œufs de l'Oursin, *Strongylocentrotus purpuratus*, par le sperme de l'Étoile de mer, *Asterias ochracea*, de la côte de Californie. Pour obtenir ce résultat, il faut simplement augmenter l'alcalinité de l'eau de mer. Quand, à 50 cent. cubes d'eau de mer, on ajoute 0 c.c.5 de NaOH à $\frac{n}{10}$, il arrive généralement que tous les œufs d'Oursins, ou presque tous, sont fécondés dans ce liquide, au bout d'une demi-heure, par le sperme de l'Astérie.

Si l'on transporte ensuite ces œufs dans l'eau de mer normale, on constate qu'une partie seulement se développe en larves. Les autres œufs forment la membrane de fécondation; une division nucléaire a lieu, mais ensuite les œufs périssent rapidement. Ces œufs se comportent comme ceux chez lesquels la formation de la membrane de fécondation est provoquée à l'aide du traitement expérimental par un acide gras (ou un autre agent de cytolyse).

Se basant sur ses expériences de parthénogénèse artificielle, l'auteur explique ce fait ainsi : un spermatozoïde a pénétré dans les œufs d'Oursins qui se développent à la suite de la fécondation par le sperme d'Étoile de mer, tandis que ceux de ces œufs, qui forment seulement la membrane de fécondation, puis dégénèrent, sont entrés en contact intime avec le spermatozoïde, sans qu'il y ait eu pénétration complète de celui-ci dans l'œuf. Dans ce cas, les spermatozoïdes fournissent à l'œuf seulement la substance (*lysine*) qui détermine la formation de la membrane, et le développement marche comme s'il y avait eu production artificielle de cette membrane. Mais les spermatozoïdes, dans ces cas, ne pénétrant pas dans l'œuf, n'y abandonnent pas la seconde substance *correctrice*, qui est nécessaire au développement ultérieur, ou plutôt qui empêche la désintégration.

La vérification de cette hypothèse, qui a une grande importance pour la théorie de l'activation, a été entreprise à nouveau l'hiver dernier (1913-1914), par l'auteur, en collabora-

tion avec le Dr Gelarie. On a trouvé qu'en effet le pourcentage des œufs d'Oursins qui, après fécondation par le sperme d'Astérie, se développent en larves, est, dans toutes les expériences, le même que celui des œufs dans lesquels on trouve un noyau spermatique 10 à 20 minutes après la formation de la membrane; tandis que le pourcentage des œufs qui forment seulement la membrane, mais ne se développent pas, est égal à celui des œufs où on ne trouve aucun noyau spermatique.

II

Ces expériences et d'autres qui ne peuvent être rapportées ici, suggèrent l'idée que l'augmentation de l'alcalinité de l'eau de mer, d'une part rend possible un contact intime du spermatozoïde d'Étoile de mer avec l'œuf d'Oursin, mais qu'elle produit en même temps un obstacle qui, dans un certain pourcentage des cas, s'oppose à la pénétration complète du spermatozoïde. La phagocytose permet d'obtenir peut-être la meilleure représentation de ce phénomène. Admettons que l'absorption du spermatozoïde dans l'œuf soit, de la part de celui-ci, une sorte de phagocytose; il est clair que l'œuf d'Oursin ne pourra absorber le spermatozoïde d'Astérie qu'en milieu alcalin; ou bien, si on se représente la phagocytose d'après les théories de la tension superficielle, il n'y a étalement, et écoulement du protoplasme ovulaire, autour du spermatozoïde, que si l'alcalinité de l'eau de mer dépasse un peu la normale. Le protoplasma d'œuf non fécondé est entouré d'une gaine gélatineuse, le chorion, que doit traverser le spermatozoïde pour arriver au contact du protoplasma ovulaire. L'auteur a observé que, dans l'eau de mer hyperalcaline, les spermatozoïdes d'Astéries sont agglutinés par cette gaine gélatineuse (et par beaucoup d'autres substances albuminoïdes). Et il est porté à se représenter que, dans une semblable eau de mer hyperalcaline, un certain pourcentage des spermatozoïdes, arrivant jusqu'au protoplasma ovulaire, adhèrent au chorion si fortement, que le protoplasma de l'œuf ne peut pas s'étaler autour de la surface complète du spermatozoïde, mais seulement autour d'une partie de celle-ci. Ces spermatozoïdes sont agglutinés, d'un côté au chorion, de

l'autre au cytoplasme ovulaire. Ce dernier s'écoule autour du spermatozoïde autant que possible, mais, comme il ne peut s'étaler entre le chorion et le spermatozoïde (parce que là, ce dernier adhère), il ne se produit pas une pénétration complète du spermatozoïde dans l'œuf. Mais, comme le spermatozoïde est enfoncé en partie dans la couche corticale de l'œuf, ou dans le cône d'attraction, la substance membranogène du spermatozoïde se dissout dans la couche corticale de l'œuf, et la membrane se produit. Cette membrane rend impossible la pénétration de tout autre spermatozoïde dans l'œuf.

L'auteur a récemment trouvé un fait qui concorde avec cette interprétation : le pourcentage des œufs d'oursin qui, après formation de la membrane, par suite du contact du sperme d'Astérie, se développent en larves, est d'autant plus faible que l'on ajoute plus de NaOH. En élevant la teneur de l'eau de mer en NaOH, on augmente aussi l'adhérence des spermatozoïdes au chorion.

III

Si ces idées sont correctes, on doit s'attendre à ce que les œufs d'Oursins, dont le chorion est artificiellement éloigné, ne montrent plus ce phénomène singulier. De tels œufs devraient se développer *tous* en larves, après fécondation par le sperme d'Astérie; car c'était seulement l'agglutination du spermatozoïde au chorion qui empêchait la pénétration du premier dans l'œuf. Herbst a trouvé qu'une faible addition d'acide à l'eau de mer dissout le chorion. Si on place les œufs d'Oursin (*S. purpuratus*), 1 minute 1/2 à 3 minutes dans 50 cent. cubes d'eau de mer + 3 cent. cubes HCl à $\frac{n}{10}$, le chorion se trouve détruit. Mais, alors qu'il est facile de féconder ces œufs avec du sperme d'Oursin, on ne réussit généralement pas à le faire avec du sperme d'Astérie, même si l'on rend l'eau de mer fortement alcaline.

Cela conduisit l'auteur à chercher des méthodes, par lesquelles il serait possible de féconder avec le sperme d'Astérie, les œufs d'Oursins, même après que le chorion a été détruit par HCl, ou au moins fortement modifié. Dans ce but,

l'auteur rechercha si d'autres substances que NaOH ne seraient pas propices à la fécondation et il trouva qu'à cet égard le calcium a une importance vraiment spécifique. Alors que, dans une solution tout à fait dépourvue de calcium, l'œuf d'Oursin ne peut pas être fécondé par le sperme d'Astérie, l'élévation de la teneur en calcium facilite l'hybridation hétérogène jusqu'au double ou au quadruple. L'élévation du taux de calcium rend possible la fécondation dans des solutions où la teneur en NaOH est très basse. Remarquons, entre parenthèses, que, même pour la fécondation de l'ovule d'Oursin par le sperme d'Oursin, le calcium est pratiquement indispensable (il ne peut être remplacé que par le strontium).

Si maintenant on met des œufs d'Oursins normaux dans l'eau de mer hyperalcaline, à laquelle on ajoute en outre du calcium, et si on la féconde par des spermatozoïdes d'Astérie, tous forment la membrane de fécondation, mais le pourcentage des œufs qui donnent des larves est encore plus faible que sans addition de calcium. Dans l'esprit de notre hypothèse, le calcium augmente la tendance du spermatozoïde à rester collé au chorion, ce qui empêche le cône d'attraction d'entourer complètement le spermatozoïde. Mais, si l'on traite les œufs d'Oursins par HCl, de façon à dissoudre ou à modifier profondément le chorion, il est possible de les féconder par le sperme d'Astérie, dans l'eau de mer hyperalcaline, dont on a élevé la teneur au calcium. On a réussi, dans beaucoup d'expériences, à féconder, par le sperme d'Astérie, 50 à 80 p. 100 de ces œufs, dans ces solutions à teneur augmentée en calcium et hypercalinisées. *Pratiquement les œufs se développent tous en larves*, ce qui prouve qu'effectivement c'était le chorion qui empêchait la pénétration des spermatozoïdes dans l'œuf.

Ces observations montrent que le concept de la phagocytose peut faciliter l'interprétation des phénomènes qui conditionnent la pénétration du spermatozoïde dans l'œuf. Il est possible, mais il n'est pas encore prouvé, que l'entrée du spermatozoïde dans l'œuf repose sur des processus de phagocytose (ou de tension superficielle).

ÉTUDES SUR LA GANGRÈNE GAZEUSE

par M. WEINBERG et P. SEGUIN.

Nous avons réuni, dans un travail d'ensemble, les résultats des recherches sur la gangrène gazeuse que nous poursuivons depuis septembre 1914. Les dimensions de ce travail sont trop grandes pour permettre sa publication intégrale dans ce recueil. Nous n'en présentons ici qu'un résumé renfermant les faits principaux que nous avons établis. Dans un ouvrage complet, qui sera publié incessamment, le lecteur trouvera les détails de nos observations et de nos expériences, la description des microbes isolés au cours de notre étude, l'étude comparée de la gangrène et du phlegmon gazeux, les résultats de nos recherches sur la sérothérapie de la gangrène gazeuse ainsi que la bibliographie complète de la question.

Nous avons divisé ce travail en quatre chapitres : 1° *Flore bactérienne de la gangrène gazeuse;* 2° *Classification bactério-clinique;* 3° *Facteurs étiologiques*; 4° *Reproduction expérimentale.*

CHAPITRE PREMIER

FLORE BACTÉRIENNE DE LA GANGRÈNE GAZEUSE

Nos recherches ont porté sur 91 cas de gangrène gazeuse (89 militaires et 2 civils). La plupart de nos observations ont été prises dans les ambulances du Camp retranché de Paris; quelques-unes, dans celles de la zone des armées. Elles se rapportent à des blessés évacués de tous les points du front.

Nous n'allons pas décrire ici la technique que nous avons utilisée dans l'étude de chaque cas. Indiquons seulement que nous prélevions chaque fois, autant que possible, de la sérosité de la plaie, de la sérosité musculaire et du liquide de phlyctène. Lorsque le cas paraissait d'emblée très grave, on prati-

quait également une hémoculture. Nos matériaux d'étude ont été prélevés *ante mortem*. Trois fois seulement nous avons opéré des prélèvements sur les cadavres de soldats morts de gangrène gazeuse depuis quelques heures. Comme les constatations bactériologiques faites alors ont été tout à fait comparables à celles consignées dans les autres observations, nous avons cru devoir les comprendre dans notre statistique :

A. — Fréquence des infections polymicrobiennes.

Nous n'avons pas rencontré un seul cas de gangrène gazeuse causé par un microbe aérobie; dans tous les cas de gangrène gazeuse que nous avons étudiés, nous avons toujours trouvé des anaérobies, seuls ou associés aux aérobies.

Si l'on envisage nos cas au double point de vue : d'une part, de l'absence ou de la présence des aérobies; d'autre part, de l'unité ou de la pluralité des anaérobies, on peut en dresser le tableau ci-dessous :

Tableau I.

	UNE SEULE ESPÈCE D'ANAÉROBIES	DEUX OU PLUSIEURS ESPÈCES D'ANAÉROBIES	TOTAL DES CAS
Anaérobies seuls	10	14	24
Anaérobies et aérobies . . .	27	40	67
Total.	37	54	91

Ainsi, dans 24 cas sur 91, la gangrène a été causée par les microbes anaérobies seuls; 10 fois par une seule espèce, 14 fois par deux ou plusieurs espèces. Dans 67 autres cas, la flore renfermait en même temps des anaérobies et des aérobies. Il est donc établi : 1° que, dans la majorité des cas, la flore de la gangrène gazeuse est polymicrobienne; 2° que les anaérobies jouent un rôle essentiel, dans la production de cette maladie.

B. — Fréquence des différentes espèces microbiennes.

Quelle est maintenant la fréquence relative des diverses espèces isolées?

Pour les espèces anaérobies, nous avons dressé le tableau statistique suivant :

Tableau II. — Fréquence des différentes espèces anaérobies.

ESPÈCES MICROBIENNES ANAÉROBIES	TOTAL	p. 100
B. perfringens	70	77
B. œdematiens	31	34
B. sporogenes	25	27
B. fallax	15	16,5
V. septique	12	13
B. tetani	9	10
B. histolyticus	8	9
B. aerofœtidus	5	5,5
B. putrificus	2	2
B. bifermentans	2	2
B. Ghon-Sachs II	1	1
B. tertius	1	1

Plusieurs faits intéressants sont mis en évidence dans cette statistique : tout d'abord, et pour l'ensemble de nos observations, la fréquence de quatre bacilles anaérobies : *B. perfringens* (Veillon et Zuber), *B. sporogenes* (Metchnikoff) et deux espèces nouvelles, décrites par nous sous le nom de *B. œdematiens* et de *B. fallax*.

Le *B. perfringens* est, de beaucoup, le microbe le plus fréquent; ce point, sur lequel l'un de nous a insisté au début de la guerre, a été vérifié depuis par la plupart des auteurs français ou étrangers qui se sont occupés de la flore des plaies.

Le *B. œdematiens* a été rencontré par nous dans un peu plus de 1/3 des cas étudiés. Son importance ressort, non seulement de sa fréquence, mais encore de la gravité qu'il imprime si souvent à la maladie qui nous intéresse.

Quant au *B. sporogenes* (27 p. 100) et au *B. fallax* (16,5 p. 100), ils ont été isolés par nous beaucoup plus fréquemment que

le V. septique. Il est remarquable que nous n'ayons pu identifier celui-ci que dans 13 p. 100 des cas étudiés. Nous sommes convaincus que les auteurs qui ont dit l'avoir rencontré souvent au cours de la présente guerre ont, la plupart du temps, pris pour ce germe soit le *B. sporogenes*, soit le *B. fallax*.

Malgré les injections préventives de sérum antitétanique, nous avons encore rencontré le *B. tetani* dans 9,5 p. 100 des plaies gangreneuses. Nous aurons l'occasion de revenir sur l'intérêt des autres espèces anaérobies plus rarement rencontrées et spécialement sur deux espèces que nous avons décrites sous le nom *B. aerofœtidus* et de *B. histolyticus*.

Pour les germes aérobies, les plus fréquents sont les cocci (streptocoques, diplocoques, staphylocoques) et le *B. proteus*.

Le streptocoque (40 p. 100 environ) est le germe le plus commun et le plus dangereux. La streptococcie est une complication grave des blessures de guerre et qui peut précéder, accompagner ou suivre l'infection gazeuse; elle en aggrave fortement le pronostic.

Les diplocoques (entérocoques, pneumocoques) sont, après les streptocoques, les *cocci* les plus habituels des plaies (33 p. 100); les staphylocoques sont un peu moins fréquents.

Parmi les bacilles ne prenant pas le Gram, le *B. proteus* est le plus fréquent. Après le *B. proteus*, c'est le pyocyanique et le *B. coli* qui ont été le plus souvent rencontrés.

Enfin, il nous est arrivé d'isoler à plusieurs reprises, en dehors du *B. subtilis*, un bacille aérobie, sporulé, mobile, qui peut être confondu, en goutte pendante, avec le V. septique, et sur frottis colorés, avec le *B. perfringens* et même avec le *B. œdematiens*. Depuis que nous avons trouvé ce microbe, quelques races nous en ont été envoyées par Ostwald, Vaucher et Fiessinger. Enfin, dernièrement il a été retrouvé par Magrou. Cet aérobie n'est pas pathogène pour le cobaye. Avec l'échantillon de Magrou nous avons tué une souris. Nous donnerons ailleurs l'étude complète de ce microbe.

C. — Microbes dangereux de la gangrène gazeuse.

Ainsi que nous l'avons montré dans le tableau II, nous n'avons pas isolé moins de douze anaérobies différents dans la flore de la gangrène gazeuse; sur ces douze espèces, cinq étaient relativement fréquentes. Faut-il considérer que chacun de ces microbes est capable à lui seul de produire la gangrène gazeuse ou bien qu'il n'existe, au contraire, qu'un petit nombre de germes dangereux?

L'ensemble de nos recherches nous a amené à mettre tout d'abord en cause 3 bacilles anaérobies : le *B. perfringens*, le *B. œdematiens* et le V. septique.

Nous avons rencontré ces bacilles, seuls ou associés, dans la plupart des gangrènes gazeuses étudiées.

Dans presque tous les cas à flore monobacillaire (35 sur 37) l'un de ces germes était présent (*B. perfringens* dans 29 cas, *B. œdematiens* dans 5, V. septique dans 1).

Dans les cas à flore anaérobie complexe (54), ces bacilles étaient presque toujours rencontrés, associés soit entre eux, soit à des anaérobies habituellement moins pathogènes. Ainsi, nous avons noté 33 groupements bacillaires différents pour 54 cas à flore anaérobie compliquée, les associations étant constituées par 2, 3, 4 et jusqu'à 5 bacilles anaérobies. Or, deux seulement de ces groupements ne renfermaient ni *B. perfringens*, ni *B. œdematiens*, ni V. septique. D'autre part, dans 22 cas (sur les 54), il s'agissait d'associations où l'on rencontrait à la fois : ou bien le *B. perfringens* et le *B. œdematiens*, ou bien le *B. perfringens* et le V. septique ou, enfin, le V. septique et le *B. œdematiens*; dans 4 d'entre eux, les 3 espèces les plus dangereuses existaient ensemble dans la flore des muscles gangreneux.

Tous les échantillons de V. septique et de *B. œdematiens* et presque tous ceux de *B. perfringens* que nous avons rencontrés dans nos 91 cas de gangrène gazeuse, possédaient un pouvoir pathogène élevé. Fraîchement isolés, ils tuaient le cobaye en vingt-quatre heures environ (injection intramusculaire de 1 cent. cube de culture en bouillon). On ne peut en dire autant pour la plupart des échantillons des autres espèces anaérobies

que nous avons rencontrées et dont le pouvoir pathogène était le plus souvent beaucoup moindre.

Le rôle du *B. perfringens* et du V. septique était, du reste, déjà connu depuis longtemps. Avant la guerre, P. Simonds, dans une monographie sur le *B. perfringens*, a réuni 175 cas d'infection gazeuse où ce microbe avait été mis en cause. Dès le début de nos recherches, l'un de nous a insisté sur le rôle fondamental joué par le *B. perfringens* dans la gangrène gazeuse au cours de la présente guerre. Ce fait a été unanimement confirmé.

Pour le V. septique, la question est un peu plus complexe. L'analyse des observations de gangrène gazeuse attribuée au V. septique publiées avant la guerre nous amène à penser qu'il n'existe qu'un tout petit nombre d'entre elles qui soient réellement démonstratives et où les auteurs aient isolé certainement le V. septique et non pas un autre bacille anaérobie mobile et sporulé. On peut en dire autant pour la plupart des observations publiées pendant la guerre. Il est cependant possible que le V. septique ait été rencontré un certain nombre de fois même, par les auteurs qui l'ont signalé sans définir suffisamment ses caractères bactériologiques, puisque nous avons isolé ce germe dans 13 p. 100 des cas de gangrène gazeuse que nous avons étudiés.

Le rôle du *B. œdematiens* ne peut pas non plus être contesté. En dehors de nous sa présence a été signalée, en France, par Legros et par Vaucher et, en Angleterre, par E. J. Dalyell; il se rencontre non seulement dans la sérosité de la plaie, mais encore dans la sérosité musculaire et dans celle de l'œdème toxique. Ce germe est, après le *B. tetani*, le plus toxique des anaérobies de la flore des plaies. La toxine inoculée dans la veine du cobaye tue l'animal en 24 à 48 heures à la dose de 1/100 à 1/400 de cent. cube. L'inoculation aux animaux de laboratoire de la culture ou de la toxine de *B. œdematiens* reproduit tous les symptômes observés chez l'homme dans la forme de la gangrène gazeuse où ce germe est le plus habituellement rencontré. Nous donnons dans le chapitre suivant la description de cette variété clinique.

L'importance du rôle joué dans la gangrène gazeuse par le *B. perfringens*, le *B. œdematiens* et le Vibrion septique ressort

encore mieux lorsqu'on examine les résultats de l'étude bactériologique et clinique des cas mortels. Ainsi, pour nos cas mortels, la mort doit être attribuée 19 fois au *B. perfringens*, 12 fois au *B. œdematiens*, 4 fois au V. septique, une fois au *B. fallax*, 2 fois à l'association *Perfringens-Œdematiens*, une fois à l'association *Œdematiens*-V. septique-*Fallax*.

Si nous envisageons maintenant l'ensemble de nos observations, nous constatons que le *B. perfringens* a amené la mort des blessés dans un quart environ des cas où sa présence a été notée, le V. septique dans un tiers et le *B. œdematiens* dans la moitié des cas. Ces faits cadrent bien avec ce que nous savons de la toxicité de chacune de ces trois espèces.

Parmi les autres anaérobies isolés dans la gangrène gazeuse, le *B. fallax* et le *B. aerofœtidus* ont à peu près le même pouvoir pathogène. Certains échantillons tuent le cobaye en produisant des lésions que nous décrivons dans notre ouvrage complet; d'autres souches sont à peu près dépourvues de tout pouvoir pathogène.

Dans deux cas relativement peu graves de gangrène gazeuse, nous avons rencontré le *B. fallax* une fois seul, une fois associé au *B. sporogenes*.

Une seule fois le *B. fallax* a déterminé la mort (septicémie et broncho-pneumonie) chez un blessé très intoxiqué.

Nous avons également observé une forme « pseudo-grave » de gangrène gazeuse imputable au seul *B. aerofœtidus*.

Ces germes, habituellement peu toxiques et grands producteurs de gaz, jouent un rôle intéressant dans les formes de gangrène gazeuse qui guérissent à la suite des traitements chirurgicaux les plus simples : débridements, lavages, etc... Associés à d'autres germes plus actifs, ils contribuent à augmenter la production des gaz dans les tissus et prennent une part dans l'intoxication de l'organisme.

Herbert Henry, bactériologiste de l'armée anglaise, à Boulogne, a retrouvé récemment (communication verbale) le *B. fallax* (4 fois) et le *B. aerofœtidus* (5 fois), associé à d'autres espèces anaérobies dans des cas de gangrène gazeuse ayant nécessité une amputation.

Le *B. sporogenes* présente le grand intérêt d'être le seul germe isolé par nous dans la flore de la gangrène gazeuse et qui

soit capable, à lui seul, de produire à la fois la destruction putride des tissus et leur infiltration gazeuse. Mais, pour déterminer ces lésions chez le cobaye, il faut inoculer d'assez fortes doses (3-5 cent. cubes) de culture de races particulièrement virulentes. Ceci nous explique que, malgré sa fréquence, ce bacille ne puisse être le plus souvent que d'une importance secondaire. Il ne se développe guère qu'en association et joue, comme nous le verrons, un grand rôle dans l'étiologie des variétés putrides de la gangrène gazeuse.

Nous n'avons isolé le B. histolytique qu'un petit nombre de fois. Cependant nous l'avons rencontré 8 fois dans les 30 derniers cas de gangrène gazeuse étudiés; il est possible que ce germe soit plus fréquent que ne l'indique notre statistique d'ensemble.

Inoculé aux animaux, sa culture amène une destruction non putride des tissus. Il ne produit pas de gaz. Ce germe présente surtout le grand intérêt de préparer le terrain aux autres anaérobies plus toxiques. Nous y reviendrons.

Nous ne pouvons pas clore cette énumération sans parler d'autres espèces anaérobies, sans doute, elles aussi, d'importance secondaire, et qui ont été isolées par d'autres auteurs au cours de la présente guerre.

Sacquépée a décrit sous le nom de B. de l'œdème gazeux malin un bacille qu'il considérait comme très voisin du *B. œdematiens*. Depuis que Veillon et Loiseau ont montré qu'il s'agissait certainement de deux espèces différentes, Sacquépée a proposé pour son microbe le nom de *B. bellonensis*.

L'intérêt de ce germe paraît surtout résider en ce qu'il produit, inoculé au cobaye (comme du reste le *B. œdematiens*, le *B. fallax* et le *B. aerofœtidus*, etc...), un œdème progressif envahissant. D'autre part, on observe au point d'inoculation un foyer gangreneux (Sacquépée) ou une nécrose locale des muscles (Veillon et Loiseau). Malgré nos nombreuses recherches nous n'avons jamais isolé de bacille donnant des lésions semblables.

Les auteurs allemands ont décrit récemment deux nouveaux microbes qu'ils rapprochent du *B. Chauvaei*. L'un, isolé par Conradi et Bieling (*B. sarcemphysematodes hominis*), nous paraît être une culture impure. L'autre, décrit par Ashoff et

ses collaborateurs, paraît être très voisin du *B. œdematiens*, mais les auteurs allemands n'ont pu obtenir sa toxine.

Indiquons enfin que certains anaérobies signalés avant la guerre dans la flore des infections gazeuses : B. de Novy, B. de Buday, B. de Wicklein, etc..., n'ont pas encore été retrouvés dans la flore des plaies.

Nous avons rencontré une seule fois un bacille qui nous a paru être identique au B. Ghon-Sachs II (1909). Miss Robertson a signalé dans la flore des plaies le bacille n° IX de von Hibler, pour lequel M. Henry a proposé récemment le nom de *B. tertius*; nous l'avons également rencontré.

Nous avons aussi trouvé, dans 2 cas de gangrène gazeuse, le *B. bifermentans*, dont la présence a été récemment signalée par Tissier dans la flore des plaies de guerre.

Il est probable que la liste de ces espèces, qui ne jouent dans la gangrène gazeuse qu'un rôle vraiment secondaire, n'est pas encore épuisée, et que d'autres anaérobies de la terre ou du fumier seront encore décrits dans la flore des plaies.

Il n'en reste pas moins prouvé, et c'est là un des points les plus intéressants de nos recherches bactériologiques, qu'il n'existe dans la terre et dans le fumier que trois espèces anaérobies (en dehors du *B. tetani*) qui soient habituellement dangereuses pour l'homme et qui sont, par ordre de fréquence, le *B. perfringens*, le *B. œdematiens* et le V. septique.

D. — Hémocultures.

Sur 20 cas de gangrène gazeuse dont la flore renfermait le *B. perfringens*, ce germe a été trouvé dans le sang chez 15 malades. L'hémoculture fut pratiquée avant la mort chez 9 blessés et fut 4 fois positive; pratiquée après la mort chez 13 blessés (par ensemencement du sang du cœur une ou plusieurs heures après la mort), elle fut trouvée 11 fois positive.

Il est possible que le *B. perfringens* ne passe le plus souvent dans le sang que dans la phase très avancée de la maladie.

Notons que, dans 2 cas, le *B. perfringens* a été décelé dans le sang des malades pendant plusieurs jours.

Sur 4 cas de septicémie mortelle à V. septique, 3 fois ce

germe est passé dans le sang plusieurs heures avant la mort (dans la première observation 24 heures avant la mort, dans la deuxième 12, et dans la troisième 6). Dans le quatrième cas où l'hémoculture a été pratiquée *post mortem*, le V. septique était associé dans le sang à une race peu active de *B. perfringens*.

Le *B. œdematiens* passe rarement dans le sang avant la mort (deux observations). Après la mort nous l'avons trouvé 5 fois dans le sang du cœur. Nous avons donc trouvé, au total, 7 hémocultures positives pour 13 cas de gangrène gazeuse dont la flore renfermait le *B. œdematiens*.

Les microbes secondaires associés passent assez souvent dans le sang avec les microbes principaux, soit avant, soit après la mort. Nous avons ainsi rencontré : le *B. sporogenes* (3 fois), le *B. putrificus* (1 fois), le *B. bifermentans* (1 fois), le *B. histolyticus* (1 fois), le streptocoque (2 fois).

Dans un cas putride mortel, causé par l'association du *B. perfringens* et du *B. sporogenes*, c'est un troisième anaérobie, le B. de Ghon-Sachs II, celui-là non pathogène, qui a passé dans le sang.

Nous voyons ainsi que l'hémoculture ne peut, à elle seule, suffire pour nous renseigner sur la flore du cas de gangrène gazeuse étudié. Dans les formes toxiques de gangrène gazeuse (à *B. œdematiens* par exemple) elle est assez souvent négative. Dans les cas où elle se trouve être positive, le bactériologiste n'est pas certain qu'un autre germe très dangereux, présent dans les tissus gangrenés, n'a pas joué dans l'évolution de la maladie un rôle plus important que le ou les microbes qui ont pu passer dans le sang.

En effet, comme nous avons déjà eu l'occasion de le publier, la mort dans la gangrène gazeuse n'est pas tant le fait de la septicémie que de l'intoxication générale de l'organisme.

Les anaérobies que l'on isole dans la gangrène gazeuse sont tous toxiques, bien qu'à des degrés divers. Certains le sont à un très haut point, comme le *B. œdematiens*; d'autres à un degré moins élevé, comme le V. septique ou le *B. perfringens*. Quant aux autres germes, *B. fallax*, *B. sporogenes*, *B. histolyticus*, etc., leurs toxines, pour ne pas être toujours très actives, ne sont pas négligeables.

Toutes ces toxines, inoculées sous la peau du cobaye,

amènent la formation d'œdèmes blancs ou plus ou moins hémorragiques, gélatineux ou séreux selon les espèces, et suivis fréquemment de la production d'escarres.

Nous comprenons que, dans les cas de gangrène gazeuse où plusieurs germes anaérobies sont associés, chacun d'eux ait sa part dans l'intoxication générale de l'organisme. Ainsi, la mort dans la gangrène gazeuse n'est pas toujours le fait d'une intoxication simple par la toxine d'un seul microbe, mais elle est souvent causée par une intoxication complexe due à l'action de toxines associées.

CHAPITRE II

CLASSIFICATION BACTÉRIO-CLINIQUE DES DIFFÉRENTES FORMES DE LA GANGRÈNE GAZEUSE

Depuis le début de la guerre, les chirurgiens ont distingué un grand nombre de formes cliniques de la gangrène gazeuse. Ils se sont attachés à définir les symptômes de cette complication des plaies et ont montré que certains d'entre eux, comme par exemple l'infiltration gazeuse, même très étendue, ne suffisaient pas pour caractériser l'affection.

Le terme « gangrène gazeuse » devrait être réservé à toute complication grave des plaies caractérisée surtout par une infiltration gazeuse marquée, ayant comme point de départ un foyer de gangrène. Celle-ci s'étend quelquefois à la totalité ou à une partie d'un membre ou bien elle est localisée à la plaie même et résulte de la destruction putride des tissus atteints par le projectile.

Il existe des complications graves des plaies de guerre où ces deux symptômes cardinaux, gangrène et infiltration gazeuses, manquent totalement, ou bien sont à peine apparents; par extension, on les range dans le groupe de la gangrène gazeuse, ce qui se justifie par l'étude bactériologique, qui montre que la gravité de tous ces cas est due aux mêmes microbes.

Nous tentons, dans ce chapitre, d'établir une classification bactério-clinique des différentes formes de la gangrène gazeuse en tenant compte des données précises précédemment établies.

Nous classons les différentes formes de la gangrène gazeuse en trois groupes :

1° *Les formes classiques*,

2° *Les formes toxiques*,

3° *Les formes mixtes*.

Chacune de ces formes comporte des variétés putrides.

1. Gangrène gazeuse classique.

Nous réunissons sous ce nom toutes les formes de gangrène gazeuse caractérisées principalement par les symptômes suivants : production abondante de gaz, crépitation gazeuse étendue, souvent superficielle, teinte bronzée des téguments, production de phlyctènes et, dans les cas mortels, terminaison habituelle par septicémie; la septicémie s'établit souvent plusieurs heures avant la mort.

Ces symptômes, qui sont signalés dans tous les traités, se rencontrent tout d'abord dans la plupart des cas de gangrène gazeuse imputable au *B. perfringens*.

Voici, à titre d'exemple, l'observation détaillée d'un cas de gangrène gazeuse où le seul *B. perfringens* doit être mis en cause.

Commandant L..., blessé à la bataille de Champagne le 25 septembre 1915, entré à l'Hôpital auxiliaire 228 dans le service du Dr Pascalis, présente une fracture compliquée de l'avant-bras droit et une plaie superficielle, qui paraît insignifiante, à la face interne de la cuisse droite.

La blessure au bras évolue favorablement; esquillectomie le 5 octobre.

Le 15 octobre, la cuisse droite est douloureuse au niveau du canal de Hunter. Il s'est formé un abcès, qui est incisé ; il s'agit d'un hématome suppuré du canal; on ne découvre pas de corps étranger.

Le 19 octobre, on perçoit une tumeur dans le triangle de Scarpa, avec battements et expansion ; anévrisme de la fémorale, dont l'existence est confirmé par la radiographie.

Le soir même, le Dr Pascalis pratique la ligature de l'artère à l'arcade crurale et résèque le sac anévrismal ; il se produit une forte hémorragie au niveau du sac.

Le 20 octobre, la gangrène gazeuse éclate ; la jambe est gonflée, tendue, sonore, marbrée de taches bleues ; elle n'est cependant pas froide. Une crépitation très nette est perçue sur toute son étendue. Deux grosses phlyctènes à sérosité laquée se sont formées l'une sur la face antérieure, l'autre sur la face postérieure de la jambe.

Le chirurgien procède à de larges débridements et à un nettoyage soigné à l'éther; pansement à l'éther. Les incisions pratiquées dans la jambe mon-

trent des lésions musculaires étendues. Les muscles sont gris sale, disséqués par les gaz; ceux-ci s'échappent abondamment des incisions; peu de sérosité sous-cutanée, pas d'œdème. L'odeur est fortement butyrique.

Des incisions pratiquées sur la face postérieure de la cuisse sort une sérosité huileuse.

Immédiatement après l'opération on pratique l'hémoculture.

Dans l'après-midi le malade est pris d'oppression; son état général ne cesse d'empirer et il meurt le 25 octobre à 4 heures du matin.

L'étude bactériologique de ce cas nous a permis de faire les constatations suivantes : dans la sérosité de la plaie on observe beaucoup de *cocci*, quelques bacilles épais, immobiles, prenant le Gram (identifiés au *B. perfringens*) et quelques bacilles fins, mobiles, prenant le Gram (identifiés au *B. fallax*).

Dans la sérosité du tissu cellulaire sous-cutané, des phlyctènes et des muscles on rencontre presque exclusivement de gros bacilles immobiles. Le *B. perfringens* est facilement isolé.

L'hémoculture pratiquée après l'opération (16 heures avant la mort) est restée négative. Mais dans le sang du cœur, ensemencé aussitôt que possible après la mort, on obtient le *B. perfringens* en culture pure. Ce microbe n'est pas extrêmement rare dans le sang et on peut le déceler par l'examen direct des frottis colorés.

Nous revenons plus loin sur l'intérêt de cette observation au point de vue de l'étiologie de certaines gangrènes gazeuses. Nous insisterons seulement ici sur l'abondance de la production des gaz et l'importance de la crépitation dans un cas de gangrène gazeuse où le *B. perfringens* a été seul en jeu.

Il nous a paru intéressant de rapprocher de cette observation un second exemple de gangrène gazeuse classique, mais où la mort a été provoquée par le V. septique.

Soldat G..., blessé le 2 mars 1915, près de Soissons, par éclats d'obus; 6 blessures aux deux jambes. Le blessé arrive à l'hôpital Saint-Joseph, dans la nuit du 4 au 5 mars; les plaies sont débridées le 6, au matin. A ce moment, le Dr Saissi constate un début de phlegmon gazeux partant d'une plaie localisée au côté externe de la cuisse gauche à quelques centimètres au-dessus du genou. On perçoit facilement la crépitation gazeuse, aux pourtours immédiats de la plaie.

Le même jour, vers 15 heures, l'état du malade s'est beaucoup aggravé. La crépitation gazeuse a envahi toute la cuisse, fortement tendue. Elle est sous-cutanée, superficielle et remonte jusqu'à quatre ou cinq travers de doigt au-dessus de la plaie. La peau a pris une teinte bronzée; les veines superficielles sont dilatées jusqu'à la racine du membre. L'état général du blessé est extrêmement mauvais.

A 18 heures la situation est désespérée : plusieurs phlyctènes à contenu rougeâtre sont apparues au niveau de la cuisse et de la fesse. La teinte bronzée des téguments remonte jusqu'à l'épine iliaque postérieure et supérieure. On pratique l'hémoculture.

Dans la soirée, étant donnée l'inutilité de la désarticulation de la hanche, on essaie de limiter la gangrène par des applications serrées de pointes de

feu sur la fesse et sur la hanche. Le tissu cellulaire est infiltré par une grande quantité de gaz, qui s'échappe bruyamment. Le malade meurt le 7 avril, à 6 heures du matin.

Cette observation, tout comme la première, peut être considérée comme le type de la gangrène gazeuse classique. L'étude bactériologique nous a pourtant montré que, à la différence du cas précédent, la mort devait être ici attribuée au V. septique.

En effet, l'hémoculture pratiquée 12 heures avant la mort nous a donné, en 36 heures, dans tous les tubes ensemencés une culture pure d'un V. septique très pathogène. De même la sérosité des phlyctènes ne contenait presque exclusivement que ce V. septique.

Mais, en poursuivant l'étude de la flore de la sérosité de la plaie, et surtout de la sérosité musculaire, nous constatons que le V. septique n'est pas le seul anaérobie auquel on doive attribuer les lésions observées. Si, dans la flore de la plaie, les microbes anaérobies sont rares, par contre, dans les muscles, on ne rencontre exclusivement que des bacilles anaérobies, et ils sont en grand nombre. Nous avons pu isoler le *B. perfringens*, le V. septique et le *B. tetani*. Les frottis, facilement interprétables, montrent que le *B. perfringens* est abondant dans la sérosité musculaire.

Il n'est pas douteux que la production d'une grande quantité de gaz dans les tissus doit être rattachée plutôt à la pullulation du *B. perfringens*, microbe grand producteur de gaz, qu'à celle du V. septique. Celui-ci, en effet, produit peu de gaz, ainsi que nous l'avons constaté dans un cas de gangrène gazeuse où il était seul en cause. Dans ce cas, l'infiltration gazeuse était fine, profonde, limitée aux muscles hyperémiés et n'a été nettement constatée qu'au cours de l'opération.

Les deux observations qui précèdent nous font considérer le *B. perfringens* et le V. septique, isolés ou associés, comme les agents habituels de la gangrène gazeuse classique. Cette forme peut même quelquefois être réalisée lorsque les microbes producteurs de gaz sont associés à des microbes très toxiques, comme le *B. œdematiens*. Ainsi nous devons à l'obligeance de MM. Abadie et Pignot une observation de gangrène gazeuse classique où nous avons trouvé, à côté du *B. perfringens*, le

B. œdematiens et le streptocoque. Le *B. œdematiens* isolé était très toxique; cependant le malade a montré comme symptôme frappant une infiltration gazeuse considérable et il est mort avant de présenter les symptômes locaux de l'intoxication par *B. œdematiens*.

2. Formes toxiques de la gangrène gazeuse.

Nous opposons aux cas de gangrène gazeuse classique tous ceux où un œdème envahissant, progressif, masque l'infiltration des tissus par les gaz et constitue, avec les symptômes généraux d'intoxication, le signe extérieur le plus apparent de l'infection. Dans les cas mortels la septicémie est rare; les microbes ne passent généralement dans le sang qu'après la mort.

Ces formes, ou formes toxiques, diffèrent cliniquement à tel point des précédentes que les chirurgiens les rapprochent plutôt de certaines infections à streptocoques (érysipèle blanc) que des véritables infections gazeuses.

Nous considérons le *B. œdematiens* comme l'agent habituel des formes toxiques de gangrène gazeuse.

Voici une observation typique d'un de ces cas toxiques où la progression de l'œdème a pu être heureusement enrayée par plusieurs injections de sérum anti-*œdematiens*.

Le soldat M... a dû subir, le 7 mai 1916, l'amputation du poignet gauche. Le Dr Courtillier, qui a pratiqué l'opération, nous confie la main pour l'étudier. Celle-ci présente sur la face palmaire des incisions multiples; elle est très épaissie. Le tissu cellulaire est envahi par un œdème blanc gélatineux, lardacé. Les muscles sont hyperémiés et fortement œdématiés. Pas d'odeur putride.

Dans la sérosité musculaire, nous observons le streptocoque, le B. pyocyanique, et un bacille anaérobie prenant le Gram, immobile, qui ressemble au *B. œdematiens*.

Le lendemain (8 mai), l'avant-bras est enflé jusqu'au coude. Le malade a une forte fièvre; l'avant-bras, doublé de volume, est tendu, blanc, œdématié. Nous ponctionnons aseptiquement la sérosité de l'œdème et prélevons un liquide citrin, très pauvre en leucocytes et contenant des amas d'un bacille immobile, prenant le Gram, auto-agglutinant, et qui est identifié au *B. œdematiens*.

Nous injectons 10 centimètres cubes de sérum anti-*œdematiens* dans la lésion et 7 centimètres cubes environ sous la peau du bras, au-dessous du coude.

Le 9 mai, l'œdème a dépassé le coude; l'état général est toujours mauvais. Nous demandons cependant au Dr Courtillier de surseoir à une seconde amputation et nous injectons au blessé 30 cent. cubes de sérum dans l'œdème brachial et 15 sous la peau du flanc.

Le Dr Courtillier pratique une incision de quelques centimètres dans l'œdème de l'avant-bras; il en sort une sérosité citrine, contenant plus de leucocytes que la veille et quelques rares bacilles immobiles prenant le Gram.

Le lendemain (10 mai), l'œdème a cessé de progresser; l'état général est meilleur; la température est de 38°1.

A partir de cette date, le malade marche rapidement vers la guérison. En trois jours le bras dégonfle progressivement, l'œdème disparaît. A signaler seulement une crise passagère de douleurs articulaires, accident sans doute d'origine sérique.

Ce blessé a complètement guéri.

Notons, dans ce cas, l'importance de l'œdème et l'absence complète de manifestations gazeuses. Les lésions observées sont exactement celles que l'on reproduit chez le cobaye en injectant, dans les muscles, une culture toxique de *B. œdematiens*.

Le *B. perfringens* peut aussi quelquefois, à lui seul, donner des lésions de gangrène gazeuse toxique, très voisines de celles produites chez l'homme par le *B. œdematiens*.

En voici un exemple :

Blessé sur le front belge, le 16 avril 1915, le soldat L... est resté 24 heures entre les lignes, sans pouvoir être relevé. Aussitôt ramené, il est immédiatement transporté à l'ambulance de « l'Océan » du professeur Depage (La Panne). Il présente une blessure profonde de la jambe par éclat d'obus, d'où l'on retire un projectile et des débris vestimentaires. La gangrène gazeuse est déjà déclarée. On observe des gaz dans la plaie; la crépitation est perceptible, mais limitée au voisinage de la plaie. Un œdème blanc, massif, est généralisé à tout le membre et remonte jusqu'à la racine de la cuisse. Il n'y a pas de phlyctène.

Le malade meurt dans la nuit.

L'étude bactériologique de la sérosité prélevée loin de la plaie, ainsi que l'hémoculture pratiquée immédiatement après la mort, ne nous ont révélé que la présence du seul *B. perfringens*.

Nous aurions pu croire que dans ce cas le *B. œdematiens* nous avait échappé, si le germe que nous avons isolé ne s'était trouvé notre échantillon le plus toxique de *B. perfringens* et s'il n'avait produit chez le cobaye les lésions observées chez l'homme; il n'est donc pas douteux que ce cas de gangrène gazeuse toxique

doit être attribué à un échantillon particulièrement toxique de *B. perfringens*.

Si intéressante que soit cette observation, elle n'en reste pas moins exceptionnelle. Dans l'immense majorité des formes toxiques de la gangrène gazeuse il faut incriminer le *B. œdematiens*, de même que le *B. perfringens* et le V. septique doivent être considérés comme les agents habituels de la gangrène gazeuse classique.

Mais nous avons insisté, dans notre premier chapitre, sur la fréquence de certaines associations et en particulier sur celle du *B. perfringens* et du *B. œdematiens*. Nous avons déjà eu l'occasion de citer une gangrène gazeuse du type classique où les lésions du *B. œdematiens* étaient masquées par l'infiltration gazeuse intense des tissus due au *B. perfringens*. Par contre, nous avons observé des cas où la même association microbienne a déterminé la forme toxique de la gangrène gazeuse. Ici, les symptômes cliniques provoqués par le *B. œdematiens* masquaient complètement la crépitation gazeuse due au développement du *B. perfringens*.

3. Formes mixtes.

La présence dans les tissus gangrenés d'un germe toxique, facteur d'œdème, et d'un bacille grand producteur de gaz peut se traduire, comme nous venons de l'indiquer, par deux tableaux cliniques opposés.

Si le bacille toxique (*B. œdematiens*) l'emporte, nous constatons une forme toxique de gangrène gazeuse. Dans le cas inverse nous observons tous les symptômes d'une forme classique, due à la prédominance du microbe grand producteur de gaz (*B. perfringens*).

Une troisième éventualité, du reste fréquente, doit être maintenant envisagée : le développement simultané ou successif des deux espèces incriminées amène souvent l'apparition d'une troisième forme de gangrène gazeuse, caractérisée par un tableau clinique plus complexe et où les deux symptômes cardinaux, œdème et crépitation gazeuse, sont l'un et l'autre apparents. A de telles formes nous donnons le nom de formes mixtes.

Ainsi, dans un cas de gangrène gazeuse mortelle (cap. Mar..., service du Dr Courtillier), nous avons observé le premier jour les symptômes de la forme toxique (œdème considérable, absence de gaz); mais le second jour ont apparu les symptômes de la forme classique (crépitation gazeuse, érysipèle bronzé, phlyctène...). L'examen bactériologique a révélé la présence du *B. œdematiens*, du *B. perfringens* et d'un diplocoque.

Dans une observation récente, M. Legros a noté l'existence simultanée d'un œdème marqué et d'une crépitation gazeuse très étendue. Cette gangrène gazeuse mixte se rapporte également à l'association du *B. œdematiens* et du *B. perfringens*.

4. Variétés putrides.

Pour pouvoir rattacher plus aisément les lésions observées aux microbes qui les produisent, nous n'avons jusqu'à présent décrit que des cas de gangrène gazeuse dont la bactériologie était relativement simple. Tous les symptômes observés ont été attribués au développement d'une ou de deux espèces anaérobies.

Nous avons cependant établi plus haut que les cas plus compliqués ne sont pas rares. Il sera maintenant plus facile de les analyser et de les comprendre.

Notons d'abord que dans toutes les observations précédentes le symptôme putridité n'a pas été signalé. Ce symptôme est pourtant considéré comme un signe important des infections gazeuses. En fait, si, chez certains malades, comme ceux dont nous avons résumé l'histoire, l'odeur putride des lésions est peu marquée ou nulle, par contre, dans le plus grand nombre des lésions gangreneuses au début ou déclarées, la putridité est intense.

Nous rattachons ce symptôme important à la pullulation de microbes habituellement peu toxiques, mais fortement putrides, qui se développent en association avec les agents principaux de l'affection.

A côté de germes qui, comme le B. pyocyanique et surtout le *B. proteus*, contribuent à rendre les lésions malodorantes, nous avons signalé, dans la flore des plaies, plusieurs anaéro-

bies putrides : *B. putrificus* (Bienstock), *B. aerofœtidus*, *B. sporogenes* (Metchnikoff); Tissier y a indiqué la présence de *B. bifermentans*, et Angelis, celle du *Clostridium fœtidum*.

Le *B. sporogenes* est certainement l'anaérobie putride le plus dangereux et le plus fréquent. Ce fait ressort non seulement de nos travaux, mais encore notamment des observations de Choukewitch et enfin de celles des auteurs — et ils sont nombreux — qui ont confondu ce microbe avec le V. septique de Pasteur.

Lorsque le *B. sporogenes* se développe en abondance dans les lésions gangreneuses, il donne lieu à une variété putride de la gangrène gazeuse. Chacune des trois formes de gangrène gazeuse que nous avons décrite possède sa variété putride à *B. sporogenes*.

5. Cas complexes.

Pour terminer ce chapitre, il nous suffira de rappeler qu'il existe des cas de gangrène gazeuse à flore anaérobie très complexe. Ces cas sont, en général, d'une extrême gravité. Nous n'en citerons qu'un exemple (Loss..., service du professeur Schwartz), intéressant à plus d'un point de vue. C'est le cas le plus compliqué que nous ayons observé. Cinq anaérobies pathogènes (*B. perfringens*, *B. œdematiens*, V. septique, *B. fallax*, *B. sporogenes*) se sont développés dans les muscles gangrenés, et ceci en l'absence de tout germe aérobie.

Dans les premiers jours de la maladie, les caractères cliniques sont ceux de la forme toxique. On décèle presque exclusivement le *B. œdematiens*, le V. septique et le *B. fallax*. Le malade est traité par le sérum mixte (sérum anti-*œdematiens*, sérum anti-V. septique et une petite quantité de sérum anti-*perfringens*). Le *B. œdematiens* et le V. septique sont jugulés.

Les jours suivants, les symptômes cliniques changent à cause du grand développement du *B. perfringens* et du *B. sporogenes* (infiltration gazeuse, phlyctènes, putridité). En même temps se déclare une septicémie à *B. perfringens* et à *B. fallax*. Le malade a succombé à une broncho-pneumonie à *B. fallax*.

Nous indiquerons dans le chapitre suivant quelques-unes

des conditions étiologiques qui règlent le développement des germes pathogènes dans la flore de la plaie. Ces conditions, du reste variées, nous permettront de nous rendre compte comment une flore de nature identique peut donner lieu, suivant les cas, à chacune des trois formes de la gangrène gazeuse.

CHAPITRE III

ÉTIOLOGIE

Il est maintenant établi que les plaies de guerre sont presque constamment souillées par d'innombrables germes présents dans la terre et le fumier. Les auteurs qui ont étudié la flore des plaies (Reverchon et Vaucher, Lévy, Fourcade et Bollack, Policard, Desplas et Phelip, N. Fiessenger, H. Tissier, E. Sacquépée, etc.) sont d'accord pour y signaler la présence fréquente de bacilles anaérobies et, spécialement, du B. *perfringens*. Il n'est donc pas douteux que, dans la plupart des blessures de guerre, les agents de la gangrène gazeuse sont représentés.

Cependant, cette maladie n'éclate que chez un certain nombre de blessés. Il est en effet nécessaire, pour que les anaérobies pathogènes pullulent dans les tissus, que certaines conditions se trouvent réalisées. C'est à l'étude de ces conditions, qui constituent les facteurs étiologiques de la gangrène gazeuse, que nous allons maintenant nous attacher.

Nous chercherons encore, au cours de cette étude, la solution de plusieurs problèmes posés dans le chapitre précédent. Nous établirons quels facteurs permettent à un anaérobie pathogène de se développer avant les autres et de prendre la prédominance. Nous tenterons ainsi d'expliquer comment une même association de bacilles anaérobies peut donner lieu, tantôt à une forme classique, tantôt à une forme toxique, tantôt à une forme mixte de la gangrène gazeuse.

Nous classerons les facteurs étiologiques principaux de la gangrène gazeuse en deux grands groupes : 1° *facteurs mécaniques*; 2° *facteurs bactériologiques*.

1. Facteurs mécaniques.

Nous faisons entrer dans ce groupe les traumatismes, les lésions osseuses et les lésions vasculaires.

Nous insisterons peu sur quelques-uns de ces facteurs, tous les chirurgiens et tous les bactériologistes étant actuellement d'accord sur leur importance. Tel est le cas pour la nature du projectile, l'étendue des délabrements produits par lui et les corps étrangers qu'il introduit dans la plaie (terre, fumier, débris vestimentaires, etc...).

Il est facile de se convaincre expérimentalement que l'attrition musculaire est un facteur étiologique important de l'infection. C'est pourquoi l'exérèse précoce des tissus altérés préconisée par M. Gaudier donne de si bons résultats (P. Duval).

Les lésions osseuses constituent un autre facteur étiologique des plus importants. Dans la statistique de F. Ivens, sur 25 cas de gangrène gazeuse mortelle, les trois quarts étaient compliqués de fractures.

Les esquilles profondes, mobiles, acérées, sont particulièrement à redouter. En se déplaçant dans le foyer de fracture, elles peuvent inoculer profondément les anaérobies pathogènes. Nous possédons des observations où cet effet s'est produit très tardivement, après même une guérison apparente.

La fracture aggrave, d'autre part, le pronostic par la mise à nu de la moelle osseuse qui constitue une porte d'entrée facile pour les microbes et une bouche d'absorption rapide pour les toxines. D'ailleurs, il est des cas (Mar..., service du Dr Courtillier) où l'infection de la moelle est primitive, les microbes pathogènes ayant été inoculés directement dans la moelle par le projectile ou par les débris vestimentaires.

Nous attachons également une grande importance aux troubles circulatoires qui diminuent la vitalité des tissus et paralysent la défense normale de l'organisme. Les chirurgiens ont reconnu les conséquences néfastes de la pratique prolongée du garrot. De même, des pansements trop serrés, des plâtres mal faits peuvent être des conditions favorisant l'infection gazeuse par suite de la compression des tissus et des troubles circulatoires qui en résultent. K. Taylor attribue un rôle considé-

rable à la pression qu'exercent les gaz produits localement dans les tissus gangrenés. Celle-ci contribuerait à augmenter la gêne circulatoire et l'asphyxie locale.

Plus importantes sont naturellement les lésions des gros troncs artériels ou veineux.

Lorsqu'une artère importante vient à être lésée la nutrition des tissus se trouve alors compromise. La diminution de la vitalité des cellules, la suppression plus ou moins complète de l'apport de sang oxygéné, réalisent des conditions tout à fait favorables à l'infection et, en particulier, à la pullulation des germes anaérobies.

Si la circulation collatérale ne peut rétablir rapidement la régularité des échanges cellulaires, les tissus meurent (gangrène ischémique) et un milieu excellent est créé pour le développement des agents pathogènes de l'infection gazeuse.

Voici le résumé d'un cas de gangrène gazeuse (forme classique due au *B. perfringens*) où l'infection gazeuse s'est établie sur des lésions ischémiques consécutives à la section par le projectile des artères nourricières du membre.

Il s'agit d'un blessé de l'Hôpital anglais de Versailles. Le 15 mars 1915, nous sommes appelés à voir ce malade qui présente une énorme plaie sur la face antéro-externe de la jambe. Le pied et la jambe sont glacés ; l'artère pédieuse ne bat plus. Le pied, dans sa totalité, et le tiers inférieur de la jambe sont noirs. De grosses phlyctènes à sérosité laquée ont apparu sur la face dorsale du pied ; les muscles qui bordent la lésion sont rouge noir ; dans le fond de la plaie ils sont gris sale et il en sort une grande quantité de gaz. Érysipèle bronzé à la partie supérieure de la jambe. Une crépitation fine superficielle est perçue jusqu'au voisinage du genou.

Le chirurgien pratique l'amputation de la cuisse ; du sérum anti-*perfringens* est injecté dans le moignon. Le malade guérit. Dans la sérosité de la plaie nous avons isolé le *B. perfringens* et une race non pathogène d'un bacille voisin du *B. fallax*. Dans les muscles le *B. perfringens* est à peu près seul. Pas de *cocci*.

La dissection du membre amputé nous a permis de constater une section traumatique de l'artère tibiale antérieure (juste à son entrée dans la loge antéro-externe de la jambe) et du tronc tibio-péronier immédiatement en dessous de la division de l'artère poplitée.

La ligature d'un gros tronc artériel peut naturellement amener les mêmes effets que la section traumatique.

Nous avons déjà cité dans notre premier chapitre une observation où la gangrène gazeuse a suivi de près la ligature d'une artère.

Dans le cas R... (Dr Legros), la gangrène gazeuse a éclaté 3 jours après la ligature de la tibiale postérieure.

Dans le cas Fl... (service du Dr Appert), elle survint moins de 2 jours après la ligature de l'artère poplitée suivie par celle de l'artère fémorale. Ce deuxième cas est d'autant plus intéressant qu'il s'agit d'un soldat porteur d'une plaie vieille de trois mois.

Dans deux autres cas, nous avons pu pratiquer l'examen bactériologique la veille et le lendemain de l'intervention chirurgicale. Dans le cas du Dr Manson (hôpital Saint-Jacques), la sérosité musculaire, au niveau de la petite plaie que présentait le malade, renfermait des B. *perfringens* très virulents et des V. septiques peu pathogènes. Dans ce cas, la gangrène gazeuse a éclaté 36 heures après la ligature de l'artère poplitée. Dans la sérosité de l'œdème gélatineux des muscles du moignon, le B. *perfringens* était seul, à l'état de pureté.

Le deuxième cas a déjà été résumé dans le chapitre précédent (commandant L..., Dr Pascalis). Il s'agit, cette fois, d'un cas tardif de gangrène gazeuse, survenu un mois après la blessure. Le chirurgien a dû lier l'artère fémorale à l'arcade crurale. Le lendemain de la ligature la jambe est froide; le pied est marbré de taches bleues; trois jours après la gangrène gazeuse éclate. Avant la ligature les *cocci* dominent dans la flore de la plaie; le jour où apparaît l'infection gazeuse, le *B. perfringens*, fréquent dans la sérosité de la plaie, est presque pur dans la sérosité musculaire. Le malade meurt de septicémie à *B. perfringens*. Il est remarquable que quelques unités de *B. perfringens* présentes dans une plaie insignifiante aient pu se développer aussi rapidement et en telle abondance à la suite de la ligature de l'artère nourricière du membre.

Il est évident que la ligature d'un gros vaisseau ne peut être suivie d'une infection gazeuse que lorsque la plaie siégeant au-dessous du vaisseau lié renferme des bacilles anaérobies pathogènes. Ceci nous fait comprendre la statistique de F. Ivens où, sur 17 ligatures, 6 fois seulement la gangrène gazeuse survint.

Mais l'arrêt de la circulation artérielle peut tirer son origine d'autres causes que la section traumatique et la ligature.

Fréquemment, de grosses artères se trouvent oblitérées par

des lésions inflammatoires : endartérites avec thrombus. L'oblitération inflammatoire des grosses artères entraîne naturellement pour les tissus les mêmes conséquences que les oblitérations traumatiques.

A titre d'exemple, plaçons ici deux courtes observations où la dissection du membre amputé a permis de rapporter l'origine de la gangrène gazeuse à l'oblitération inflammatoire des artères.

C'est d'abord un cas mortel (variété putride de gangrène gazeuse toxique ; soldat K..., service du professeur Kirmisson). En disséquant le bras amputé nous trouvons l'artère humérale oblitérée par un gros caillot, un peu au-dessus de sa bifurcation. Les veines sont noires, mais perméables. A la faveur de cette oblitération artérielle, la gangrène gazeuse a éclaté une dizaine de jours après la blessure.

Voici une autre observation brièvement rapportée. Il s'agit d'une gangrène gazeuse classique de la jambe et de la cuisse, causée par le *B. perfringens*, et qui a guéri à la suite de l'amputation et de l'injection de sérum anti-*perfringens*.

Le soldat Pal... est soigné à l'hôpital anglais de Versailles pour une fracture compliquée du fémur au tiers inférieur. Le 15 mars 1915 nous voyons ce blessé qui est en pleine gangrène gazeuse. Le pied est noir et glacé ainsi que le tiers inférieur de la jambe. De grosses phlyctènes sont apparues sur la face dorsale du pied.

La crépitation est perçue au niveau de la jambe et à la partie inférieure de la cuisse.

Le chirurgien pratique l'amputation de la cuisse au tiers supérieur. 20 cent. cubes de sérum anti-*perfringens* sont injectés dans la veine et 20 cent. cubes dans les muscles du moignon. A noter que le tissu conjonctif intermusculaire est envahi au niveau de la section par un œdème gélatineux rougeâtre.

Nous isolons de la sérosité des muscles et des phlyctènes deux variétés de *B. perfringens*.

A la dissection du membre, l'artère fémorale et la poplitée sont intactes; mais la tibiale antérieure, la tibiale postérieure et la péronière sont noires et thrombosées.

L'oblitération inflammatoire des artères est souvent accompagnée de lésions des troncs veineux voisins, lesquelles peuvent aboutir à la phlébite oblitérante. Les veines sont alors noires, de gros caillots sanguins noirâtres remplissent le calibre du vaisseau et l'obstruent sur une longueur variable.

La phlébite oblitérante, même réalisée seule, constitue un important facteur d'infection gazeuse. La gêne imprimée à la circulation en retour peut amener l'apparition d'un œdème d'origine mécanique. Celui-ci, par la pression qu'il exerce sur les tissus, contribue à augmenter à son tour la gêne circulatoire; la diminution des échanges cellulaires, la moindre vitalité des cellules créent des conditions favorables au développement de l'infection gazeuse.

Dans un cas mortel de gangrène gazeuse toxique (soldat B..., service du D[r] Lardennois), l'éclosion tardive de l'infection gazeuse doit être attribuée à une thrombose de la veine poplitée, qui a favorisé la pullulation des anaérobies toxiques. Des lésions de phlébite oblitérante ont été retrouvées à la dissection du membre. L'artère poplitée était noirâtre, mais perméable.

En résumé, toute altération grave et profonde des tissus, toute gêne à la circulation normale du sang dans un membre blessé constituent des facteurs favorisant l'infection gazeuse. Suivant le moment où ces facteurs interviendront, la gangrène éclatera précocement ou tardivement.

Ceci nous explique que la maladie puisse suivre de près la blessure ou demander au contraire des jours, des semaines ou des mois pour se déclarer.

Les cas tardifs d'infection gazeuse (15 jours à 3 mois) sont spécialement instructifs. Nous avons groupé dans le tableau III ci-contre, cinq de nos observations de gangrène gazeuse tardive.

Ce tableau met en évidence l'importance des lésions capables de déterminer la pullulation rapide des quelques germes dangereux encore présents, mais endormis dans la plaie. Le microbisme latent (Lecène et Frouin) et divers facteurs mécaniques réalisent les conditions nécessaires à l'éclosion des cas tardifs d'infection gazeuse.

Nous tenons à insister sur ce point que, quelle que soit la gravité des lésions musculaires, osseuses ou vasculaires, l'infection gazeuse ne se développera que si les germes anaérobies présents dans les blessures y sont représentés par des races virulentes ou toxiques.

Tableau III.

NOM du BLESSÉ	SERVICES	TEMPS ÉCOULÉ entre la blessure et l'apparition de la gangrène gazeuse.	FACTEURS ÉTIOLOGIQUES	MICROBES ISOLÉS
Sold. K.	Issy-les-Moulineaux (professeur Kirmisson).	Plus de 10 jours.	Artérite et thrombose (artère humérale).	Streptocoque, *B. œdematiens*, *B. sporogenes*, *B. tetani*.
Sold. L.	Hôpital auxiliaire des Belles-Feuilles (professeur Schwartz).	15 jours.	Esquille du tibia.	*B. œdematiens*, *B. perfringens*, *B. fallax*, V. septique, *B. sporogenes*.
Sold. B.	Hôpital du Panthéon. (Dr Lardennois).	15 jours.	Phlébite oblitérante (veine poplitée).	*B. œdematiens*, V. septique, *B. fallax*.
Com. L.	Hôpital de l'Hôtel Meurice (Dr Pascalis).	1 mois.	Ligature de l'artère fémorale.	*B. perfringens*.
Sold. Fl.	Hôpital du Grand Palais (Dr Appert).	3 mois.	Ligature des artères poplitée et fémorale.	*B. aerofœtidus*, Streptocoque, B. pyocyanique.

Il est des cas, bien que plus rares, où la gangrène gazeuse se greffe sur des plaies en apparence banales. On ne peut expliquer leur étiologie qu'en incriminant d'autres facteurs que les facteurs mécaniques. Nous les attribuons soit à des contaminations particulièrement sévères, soit encore à certaines associations microbiennes dont nous allons maintenant essayer de préciser le rôle favorisant dans l'étiologie des infections gazeuses.

2. Facteurs bactériologiques

Il est évident que si le projectile inocule avec lui profondément dans les tissus un nombre considérable de germes anaérobies très dangereux (comme certaines races de *B. œdema-*

tiens, de *B. perfringens* ou de V. septique), le blessé se trouvera immédiatement placé dans les conditions que l'on réalise expérimentalement lorsqu'on injecte à l'animal des cultures pures d'un microbe actif, et l'infection suivra rapidement son cours.

Cette éventualité doit être exceptionnellement réalisée. Le plus souvent la plaie est contaminée par un mélange de microbes aérobies et anaérobies, isolément plus ou moins dangereux, et qui se développent ensemble ou successivement, suivant les conditions qui favorisent ou contrarient leur pullulation.

Il nous faut donc maintenant étudier le rôle des associations microbiennes sur le développement dans l'organisme des anaérobies qui nous intéressent.

A. — Microbes aérobies. Par analogie avec ce que l'on sait du tétanos, il était logique d'incriminer les germes aérobies comme favorisant l'infection gazeuse. Les aérobies préparent le terrain et les anaérobies se développent à leur suite. Cette hypothèse est étayée par quelques expériences. Rappelons d'abord le travail déjà ancien de Roger, qui a montré que l'on pouvait rendre pathogène pour le lapin une race inactive de V. septique en l'associant au *B. prodigiosus*. Costa et Troisier ont inoculé à des cobayes une culture de *B. perfringens* non virulent associé à un pneumocoque (isolé du liquide céphalo-rachidien dans un cas de méningite). Les cobayes ont présenté des lésions importantes : gros œdème et petit phlegmon gazeux local. Dean et Mouat se sont demandé si le staphylocoque doré favorisait le développement du *B. perfringens* et d'un microbe qu'ils identifient au *B. œdematis maligni*. Le résultat de leurs expériences n'a pas été concluant : le *B. perfringens* (isolément non pathogène) n'a pas produit de lésion appréciable chez deux cobayes, même associé au staphylocoque doré. Deux fois le *B. œdematis maligni* (?) paraît avoir été favorisé par le staphylocoque. Dans trois autres expériences l'inoculation des mélanges de cultures de chacune de ces deux espèces n'a provoqué l'apparition d'aucune lésion dans la cuisse du cobaye. K. Taylor n'a pas été plus heureux en

associant le *B. perfringens* au staphylocoque. Par contre, H. Tissier attache une grande importance au rôle favorisant des germes aérobies : « un V. septique, inoffensif à lui seul à la dose de 2 cent. cubes de culture en bouillon pour un cobaye de 450 grammes, tue l'animal de même poids en 20 heures lorsqu'on l'associe au staphylocoque blanc et en six heures lorsqu'on l'inocule avec le staphylocoque et le *B. mesentericus fuscus.* »

L'auteur reconnaît, du reste, que l'action exercée par l'aérobie n'est pas toujours suffisante pour amener le développement du microbe anaérobie. Les résultats sont plus constants lorsqu'on inocule un mélange de culture dans les muscles préalablement écrasés. (Nous savons que cette condition, même réalisée seule, suffit pour renforcer considérablement l'activité du *B. perfringens.*)

« Ainsi, le *B. perfringens* mélangé à l'entérocoque tue le cobaye en trois jours, avec du staphylocoque blanc en 21 heures, avec du streptocoque vrai en 15 heures. »

Quel que soit l'intérêt de ces expériences, nous ne pouvons adopter les conclusions de H. Tissier pour qui le *B. perfringens*, le V. septique et, en général, les anaérobies isolés dans les plaies et dans les muscles gangrenés sont constamment dépourvus de pouvoir pathogène, n'ont pas de virulence propre, ne sécrètent pas de toxine soluble et ne peuvent se développer qu'à l'abri des germes aérobies.

Nous considérons cette opinion comme excessive. Sans parler de toute la partie expérimentale de notre travail, qui contredit cette affirmation, notons, d'abord, que la plupart des auteurs qui ont étudié la flore des plaies ou des infections gazeuses se sont trouvés d'accord pour y signaler la présence fréquente d'anaérobies pathogènes.

En second lieu, il est remarquable que les races les plus virulentes ou les plus toxiques de *B. perfringens*, de V. septique ou de *B. œdematiens* rencontrées par nous proviennent toutes de cas très graves, presque tous mortels, de gangrène gazeuse. Il n'en serait probablement pas ainsi si la gravité de l'infection était, comme le prétend H. Tissier, exclusivement réglée par les germes aérobies associés. Enfin, nous avons déjà signalé dans notre premier chapitre qu'assez souvent l'analyse

bactériologique des sérosités musculaires ne permet pas d'y déceler de microbes aérobies ou permet seulement d'en isoler quelques unités. Cependant la maladie est alors toujours extrêmement sévère.

Ce sont sans doute des constatations de cette nature qui ont permis à Margouliès-Aitoff et Braïlowsky d'affirmer que l'infection gazeuse est d'autant moins grave que les germes aérobies sont rencontrés dans les tissus gangrenés en plus grande abondance.

Nous n'allons pas jusqu'à adopter cette conclusion. Les aérobies des plaies gangreneuses, tout comme les anaérobies, ont souvent leur toxicité propre et leur virulence. Si leur présence n'est pas toujours nécessaire pour que la complication gazeuse se déclare, ils peuvent néanmoins intervenir pour aggraver la maladie.

La streptococcie est une complication grave et relativement fréquente des blessures de guerre. Nous savons qu'elle précède, accompagne ou suit souvent l'infection gazeuse. Lardennois et Baumel ont récemment encore insisté sur ce fait.

Il n'est pas douteux que la streptococcie n'aggrave fortement le pronostic de la gangrène gazeuse, bien qu'il arrive assez fréquemment que la septicémie à streptocoque suive une marche subaiguë ou chronique et se termine par la guérison.

L'ostéomyélite à staphylocoque est aussi, bien que plus rarement, une séquelle de l'infection gazeuse.

Mais il y a alors superposition ou succession de deux maladies différentes, dont les relations entre elles n'ont fait encore l'objet d'aucune étude sérieuse.

En résumé, nous admettons volontiers que, d'une manière générale, les aérobies puissent favoriser les anaérobies en absorbant l'oxygène du milieu ou en détournant sur eux l'action des phagocytes. Certains germes aérobies fréquents dans les plaies exercent probablement par leurs produits de sécrétion (toxine ou diastase) une action favorisante particulière sur le *B. perfringens*, le V. septique ou le *B. œdematiens*; mais nous manquons encore à cet égard de données suffisamment précises et le problème reste entier.

B. — Microbes anaérobies. Nous pouvons, par contre, apporter des observations personnelles sur le rôle que jouent

certains anaérobies lorsqu'ils se trouvent associés aux agents pathogènes des infections gazeuses.

Nous avons récemment insisté sur l'importance d'un nouvel anaérobie pathogène que nous avons décrit sous le nom de *B. histolyticus*. Ce microbe, inoculé dans les plaies, s'attaque au tissu conjonctivo-vasculaire qu'il transforme en bouillie hémorragique; les lésions ne sont pas putrides et il n'y a pas de production de gaz. La destruction hémorragique des tissus produite par le B. histolytique réalise, au même titre que l'attrition musculaire créée par le projectile, un milieu de choix pour le développement des anaérobies de la gangrène gazeuse.

Ce fait est prouvé par des expériences et par des observations bactériologiques et cliniques faites sur l'homme.

Voici un exemple d'association de *B. histolyticus* et de *B. perfringens* :

Six cobayes sont inoculés dans la cuisse avec des mélanges différemment dosés de culture en bouillon de *B. perfringens* et de *B. histolyticus*.

Deux animaux ont reçu chacun 1/4 de cent. cube de culture de *B. histolyticus* et 1/10 de cent. cube de culture de *B. perfringens*; deux autres cobayes, chacun 1/10 de cent. cube de culture de *B. histolyticus* et 1/10 de cent. cube de culture de *B. perfringens*; enfin les deux derniers cobayes sont inoculés avec 1/20 de cent. cube de *B. histolyticus* et 1/20 de cent. cube de *B. perfringens*.

Alors que chez les animaux témoins la culture de *B. histolyticus* et celle de *B. perfringens* n'ont été pathogènes qu'à la dose limite de 1/4 de cent. cube (mort en 48 heures), tous les cobayes injectés avec le mélange des deux microbes sont morts très rapidement en présentant de grosses lésions à caractères mixtes (un cobaye en 21 heures, quatre en 24 heures, un en 30 heures).

On obtient des résultats aussi démonstratifs en associant le *B. histolyticus* au *B. œdematiens*.

Depuis que nous avons appris à connaître les caractères du B. histolytique, nous l'avons fréquemment rencontré (8 fois sur 30 cas récemment étudiés). Sur 9 échantillons de *B. histolyticus* que nous possédons, 4 ont été isolés dans des cas de gangrène

gazeuse mortelle. Dans quatre autres cas l'amputation a dû être pratiquée.

Les races virulentes d'un autre germe anaérobie, le *B. sporogenes*, inoculées à fortes doses, produisent des lésions comparables ; mais il s'agit alors d'une destruction putride et gazeuse des tissus. Lorsque l'on associe une dose moindre, non pathogène, de culture de ce microbe à une dose infime de culture de *B. perfringens*, on réalise des lésions mixtes, phlegmon gazeux putride, et l'animal meurt rapidement. Dans ces conditions, le *B. sporogenes* se développe à l'abri de la toxine du *B. perfringens*. Celui-là favorise à son tour le *B. perfringens* et l'animal succombe à une infection mixte.

Dans les nombreuses associations microbiennes que nous avons eu l'occasion d'étudier, de tels faits sont loin d'être l'exception. Une race, même peu pathogène, de *B. perfringens* peut favoriser le départ d'un V. septique très toxique (cas du Dr Saïssi). Inversement, un V. septique peu actif peut également favoriser un *B. perfringens* virulent (cas du Dr Manson).

De même, pour l'association du *B. perfringens* et de *B. œdematiens*, un *B. perfringens*, même peu pathogène, peut se développer à l'abri du *B. œdematiens* et favoriser la pullulation de ce microbe. Celui-ci, s'il est plus toxique, prendra le dessus et le blessé succombera à une forme toxique de gangrène gazeuse (cas D..., Dr Paul Delbet).

L'inoculation au cobaye de mélanges de cultures de ces divers anaérobies pathogènes permet, comme nous le verrons plus loin, de reproduire exactement les symptômes observés chez l'homme. On peut ainsi expliquer la diversité des formes cliniques attribuables aux mêmes flores.

*
* *

Pour conclure, il n'est pas douteux qu'en dehors des lésions considérables causées par les projectiles, qu'en plus des fractures, des sections et des oblitérations vasculaires, certaines associations microbiennes puissent créer pour les agents de la gangrène gazeuse des conditions de développement particulièrement favorables.

Les germes qui contribuent à la lyse des tissus offrent un

intérêt particulier; sont importants aussi tous ceux qui, par leurs produits de sécrétion, favorisent le départ des germes principaux.

Si, pour les aérobies, l'étude de ces interactions microbiennes est encore peu avancée, au moins avons-nous pu établir quelques faits intéressants pour certains anaérobies des plaies de guerre.

Nous pensons que c'est en travaillant dans cette voie que l'on pourra éclairer bien des points encore obscurs dans l'étiologie des infections gazeuses et, d'une façon plus générale, dans l'origine des maladies attribuables à des associations microbiennes.

CHAPITRE IV

REPRODUCTION EXPÉRIMENTALE

La meilleure preuve du rôle pathogène joué par quelques anaérobies dans les infections gazeuses nous est fournie par l'étude des lésions qu'ils provoquent lorsqu'on les inocule aux animaux de laboratoire.

Il est possible de reproduire chez le cobaye les principaux symptômes des formes classiques, toxiques ou mixtes de gangrène gazeuse ainsi que de leurs variétés putrides. Pour ce faire, il suffit d'injecter à l'animal, soit isolément, soit en association, les cultures des divers anaérobies les plus habituellement rencontrés dans chacune de ces modalités cliniques.

A. — *Formes classiques.* On peut reproduire les principales lésions de la forme classique de la gangrène gazeuse humaine en inoculant au cobaye, dans les muscles de la cuisse, des doses convenables de cultures en bouillon de *B. perfringens.*

La description de ces lésions expérimentales sera donnée ailleurs. Notons seulement ici qu'en plus de la dissociation des muscles par les gaz et des altérations du tissu musculaire, on peut reproduire chez l'animal plusieurs autres symptômes de la forme classique, érysipèle bronzé, phlyctènes, septicémie, etc.

Les lésions de l'œdème malin chez le cobaye rappellent éga-

lement de très près celles produites chez l'homme par le V. septique. Les muscles sont rouges, hyperémiés, infiltrés de fines bulles de gaz. Un œdème rouge séreux envahit le tissu conjonctif sous-cutané. L'infiltration gazeuse est discrète, ordinairement limitée à quelques bulles de gaz dans le tissu conjonctif au voisinage de la lésion; la septicémie s'établit en général avant la mort, laquelle survient brutalement.

Nous avons retrouvé tous ces symptômes dans le seul cas de gangrène classique à V. septique que nous ayons observé (soldat Am..., service du Dr Ivens).

Mais nous savons que le V. septique est très rarement rencontré seul dans la gangrène gazeuse humaine. Le plus souvent ce germe est associé au *B. perfringens*. Les lésions que l'on observe alors sont celles d'une forme classique de gangrène gazeuse, avec envahissement considérable du tissu cellulaire par les gaz.

Il est facile, en injectant dans la cuisse du cobaye des mélanges différemment dosés de cultures de *B. perfringens* et de V. septique, d'obtenir des lésions complexes, où la dissociation des muscles et l'infiltration des tissus par les gaz se superposent aux lésions de l'œdème malin.

On reproduit ainsi chez le cobaye la plupart des symptômes observés chez l'homme.

B. — *Formes toxiques*. Lorsqu'on inocule dans les muscles de la cuisse d'un cobaye la culture ou la toxine de *B. œdematiens*, le tableau clinique observé est exactement celui de la forme toxique de gangrène gazeuse humaine à *B. œdematiens*.

Nous avons observé de même un cas de gangrène gazeuse toxique (soldat L..., service du Dr Depage) imputable au *B. perfringens*. Le germe que nous avons isolé dans les muscles et dans le sang du blessé s'est trouvé être très toxique; inoculé au cobaye, il produit des lésions qui sont l'image fidèle de celles observées chez l'homme.

Enfin, on peut encore reproduire expérimentalement la forme toxique de la gangrène gazeuse en associant le *B. œdematiens* à divers anaérobies : *B. perfringens*, V. septique, etc. Pour réussir l'expérience, il suffit d'utiliser un *B. œdematiens* très toxique, qui tue l'animal en quelques heures avant que

les autres germes aient eu le temps de se développer et de produire leurs lésions caractéristiques.

C. — *Formes mixtes.* Mais, si l'on a soin d'associer à un *B. œdematiens* moins pathogène un *B. perfringens* plus actif (par exemple 1 cent. cube d'une culture tuant le cobaye à la dose 1/4 cent. cube en 48 heures), les deux microbes se développeront ensemble et l'animal succombera, du reste rapidement, en présentant les principales lésions d'une forme mixte de gangrène gazeuse.

La dissociation des muscles et le décollement des tissus par les gaz coïncideront avec l'envahissement du tissu sous-cutané par un œdème gélatineux caractéristique.

D. — *Variétés putrides.* Nous nous sommes attachés à reproduire chez le cobaye les variétés putrides de gangrène gazeuse. Il faut en effet noter que, si les lésions du *B. perfringens* dégagent souvent une forte odeur d'hydrogène sulfuré, elles ne sont cependant pas réellement putrides. De même, les lésions du V. septique et du *B. œdematiens* ne s'accompagnent pas de véritable putridité.

Pour reproduire une gangrène gazeuse putride, il est nécessaire d'associer aux anaérobies pathogènes des cultures de microbes putrides. Parmi ceux-ci, le *B. sporogenes* est certainement le plus intéressant.

Le *B. sporogenes* est le seul anaérobie que nous ayons rencontré qui soit capable, *à lui seul*, d'amener parfois la destruction putride et gazeuse des tissus. Certains échantillons de *B. sporogenes* isolés des plaies gangreneuses peuvent même tuer le cobaye à la dose de 3 à 4 cent. cubes de culture en bouillon (inoculation intramusculaire).

Mais, comme le *B. sporogenes* est habituellement beaucoup moins actif que les autres anaérobies pathogènes des infections gazeuses, et comme il est toujours associé, dans les formes putrides graves, soit au *B. perfringens*, soit au *B. œdematiens*, soit au V. septique, nous avons cru intéressant d'étudier expérimentalement les lésions produites par chacun de ces germes lorsqu'on associe leurs cultures à celle du *B. sporogenes.*

Les résultats de ces expériences d'association se sont trouvés éclairés par l'étude de l'action qu'exerce *in vitro* le filtrat des

cultures de *B. sporogenes* sur la toxine des trois anaérobies principaux de la gangrène gazeuse.

Le filtrat de *B. sporogenes* détruit la toxine du *B. œdematiens*. Mélangeons dans un verre stérile 1/50 de cent. cube de toxine de *B. œdematiens* avec 1 cent. cube de filtrat de *B. sporogenes*. Portons le mélange pour une heure à l'étuve à 37°. Injectons-le alors sous la peau du ventre du cobaye. Les animaux injectés n'ont aucune lésion appréciable et survivent.

Des témoins inoculés avec 1/50 et 1/100 de toxine de *B. œdematiens* présentent, au contraire, en 24 heures, un gros œdème étendu à tout l'abdomen, lequel progresse le jour suivant. Ils meurent en 60 heures.

Un cobaye ayant reçu, dans les conditions indiquées plus haut, 1/4 de cent. cube de la toxine de *B. œdematiens* (au moins 25 doses mortelles) mélangé à 1 cent. cube de filtrat de *B. sporogenes*, n'est mort qu'en 4 jours et demi avec des lésions plus faibles que celles produites par 1/100 de cent. cube de la toxine injectée isolément.

Nous avons montré de même que le filtrat de *B. sporogenes* altère *in vitro* la toxine du V. septique. Prenons 1 cent. cube d'une toxine de V. septique. Cette dose a déterminé, en injection intraveineuse, la mort foudroyante de 4 cobayes témoins en 3 à 5 minutes, avec crise de convulsions, dyspnée intense et mort par arrêt respiratoire. Injectons la même dose mélangée à 1 cent. cube de filtrat de *B. sporogenes*, le mélange ayant séjourné une heure à l'étuve. Les animaux ne présentent immédiatement aucun accident grave. Au bout d'une demi-heure environ éclate une crise de paralysie et de dyspnée; les animaux ont le poil hérissé, titubent, tombent, puis se relèvent; au bout de 2 heures, ils sont à peu près rétablis. Sur 4 cobayes injectés avec le mélange, 1 survit, 3 autres meurent dans la nuit en même temps que les animaux témoins qui ont reçu 1/2 et 1/4 de cent. cube de toxine de V. septique en injection intraveineuse. 1 cent. cube de filtrat de *B. sporogenes* a donc détruit en une heure d'étuve au moins la moitié de la toxine mélangée.

Toute différente est l'action du filtrat de *B. sporogenes* sur la toxine de *B. perfringens*. 1 à 2 cent. cubes de toxine de *B. perfringens* provoquent chez le cobaye, en injection sous-

cutanée, l'apparition d'un gros œdème mou, étendu à tout l'abdomen, et auquel succède une escarre. L'animal guérit en 3-4 jours. Si l'on inocule sous la peau du cobaye un mélange de 1 à 2 cent. cubes de toxine de *B. perfringens* et 1 cent. cube de filtrat de *B. sporogenes* (après une heure de séjour à l'étuve), on voit apparaître localement un gros œdème, au moins aussi développé que chez les animaux témoins inoculés avec la seule toxine de *B. perfringens*. La lésion demande le même temps pour guérir.

Nous comprendrons maintenant plus facilement le résultat des inoculations de nos divers mélanges de cultures de *B. sporogenes* et de divers anaérobies pathogènes.

Il est extrêmement facile de reproduire une forme putride de la gangrène gazeuse en associant le *B. sporogenes* au *B. perfringens*. Une dose isolément non pathogène de *B. sporogenes* mélangée à des doses faibles de culture de *B. perfringens*, détermine rapidement la mort du cobaye. Les lésions observées sont mixtes. La peau, dépouillée de ses poils, est gris verdâtre, malodorante. La lésion est extrêmement putride. Les muscles sont liquéfiés, grisâtres. Les veines sont noires, oblitérées. Il y a formation d'une grande poche de gaz, et un œdème séreux, rouge gris, sale, est étendu à une partie du tissu conjonctif de la peau de l'abdomen. Dans la sérosité pullulent les deux microbes, *B. perfringens* et *B. sporogenes*.

Le tableau IV donne le protocole d'une de nos expériences.

Il est très vraisemblable que le *B. sporogenes* a pu se développer, protégé contre les phagocytes par la toxine du *B. perfringens*; à son tour, il a exercé sur le *B. perfringens* une action favorisante. Nous comprenons ainsi comment un *B. perfringens*, qui, dans notre expérience, n'a tué un cobaye témoin qu'à la dose limite de 1/2 cent. cube en 62 heures, puisse amener en 24 heures la mort d'un autre animal lorsqu'on l'inocule à dose très faible (1/20 de cent. cube), en l'associant à 1 cent. cube de *B. sporogenes* (dose isolément non pathogène).

S'il est très facile de reproduire une lésion putride en associant le *B. sporogenes* au *B. perfringens*, on réussit moins facilement cette synthèse lorsqu'on associe le *B. sporogenes* au V. septique.

Si l'on mélange 1 cent. cube de culture de *B. sporogenes*

(dose isolément non pathogène) à des doses mortelles variables de culture de V. septique (1/10 de cent. cube, 1/20 de cent. cube, 1/50 de cent. cube), les animaux meurent en 12 à 24 heures en présentant les lésions classiques de l'œdème malin. On n'observe pas de putridité.

Tableau IV.

Association de la culture de *B. sporogenes* (souche Ostw.) avec celle de *B. perfringens* (souche Lech.),

(*Inoculations intra-musculaires*).

Nos des cobayes	*B. perfringens* culture en bouillon 48 heures	*B. sporogenes* culture en bouillon 24 heures	Résultats
13 A	1/2 c.c.	1 c.c.	Mort en 36 heures.
1 A	1/4 c.c.	1 c.c.	Mort en 26 heures.
81 A	1/10 c.c.	1 c.c.	Mort en 26 heures.
42 A	1/20 c.c.	1 c.c.	Mort en 24 heures.
Témoins			
25 S	1/2 c.c.	....	Mort en 62 heures.
29 S	1/4 c.c.	....	Œdème; a guéri.
90 P	1/10 c.c.	....	Cuisse tuméfiée; a guéri.
90 K	....	1 c.c.	Cuisse un peu tuméfiée; a guéri.
9 Q	....	1 c.c.	Pas de lésions.

Nous comprenons que le *B. sporogenes* ne puisse se développer à l'abri du V. septique, puisque les produits de sécrétion du premier altèrent la toxine du second. Cette faible dose de *B. sporogenes* est vraisemblablement déjà phagocytée quand le V. septique commence à se développer dans l'organisme du cobaye.

Pour réaliser à coup sûr la synthèse putride, il est nécessaire d'associer à une dose mortelle de culture de V. septique (1/4 ou 1/10 de cent. cube) une dose de *B. sporogenes* qui soit à elle seule pathogène (3 à 5 cent. cubes de culture). Les

cobayes succombent alors en 12 à 15 heures en présentant les lésions mixtes caractéristiques. La peau est dépouillée de ses poils, verdâtre. Les muscles sont partiellement disséqués et digérés, transformés en bouillie au point d'inoculation. Un œdème rouge framboise est étendu à tout l'abdomen; l'odeur de la lésion est fortement putride.

L'association du *B. sporogenes* et du *B. œdematiens* est également très intéressante. Si l'on mélange 1 cent. cube de culture de *B. sporogenes* (dose isolément non pathogène) à des doses mortelles variables de culture de *B. œdematiens* (1/4, 1/10, 1/20 de cent. cube), on obtient parfois des lésions pures de *B. œdematiens* : œdème blanc rosé, muscles hyperémiés, mais non gangrenés, peu de gaz, pas d'odeur putride. Dans la sérosité des muscles, on rencontre presque exclusivement le *B. œdematiens*.

Chez d'autres cobayes, par contre, l'inoculation des deux microbes est suivie du développement de lésions mixtes : les muscles sont rouge noir, partiellement liquéfiés, laissant le fémur à nu; un œdème rouge foncé envahit la paroi abdominale; il y a une abondante production locale de gaz et la lésion a une odeur putride. Dans la bouillie musculaire, le *B. sporogenes*, mobile, pullule à côté des bâtonnets immobiles du *B. œdematiens*.

Il est vraisemblable que, suivant les conditions de l'inoculation, ou suivant la résistance du cobaye vis-à-vis du *B. sporogenes*, celui-ci est tantôt totalement, tantôt partiellement phagocyté, au moment où le *B. œdematiens* commence à se développer dans l'organisme. Dans le premier cas, on observe des lésions typiques à *B. œdematiens*, dans le second, des lésions mixtes.

Pour conclure, il est possible de reproduire chez le cobaye la forme putride de la gangrène gazeuse en associant le *B. sporogenes* à un des trois principaux anaérobies pathogènes de la gangrène gazeuse. Cette expérience est surtout facile à réussir en associant le *B. sporogenes* au *B. perfringens*. D'ailleurs, c'est l'association *B. sporogenes* + *B. perfringens* qui a été le plus souvent trouvée par nous dans la gangrène gazeuse putride chez l'homme.

L'association du *B. perfringens* et du *B. sporogenes* présente

encore pour nous un autre intérêt. Nous y trouvons un bon exemple de la gravité d'une infection causée à la fois par deux germes pathogènes associés. La superposition des effets toxiques amène la mort du cobaye en un laps de temps relativement très court (20 à 36 heures); il a fallu, au contraire, plus de 60 heures pour que des cobayes inoculés avec une dose dix fois plus forte de culture de *B. perfringens* succombent à l'infection.

Des constatations de cette nature nous ont amenés à étudier expérimentalement l'action des mélanges de diverses toxines. Nous avons observé très souvent que le mélange de filtrats toxiques inoculé aux animaux de laboratoire amène la production d'accidents très graves, voire mortels, même quand on utilise les toxines à des doses telles que, injectées isolément, elles ne produisent que peu ou pas d'accidents chez l'animal.

L'étude de l'action des toxines associées ou cénotoxines éclaire l'évolution de certaines formes très graves de gangrène gazeuse humaine et spécialement celles où le blessé succombe rapidement à une intoxication massive, amenée par le développement simultané de plusieurs germes toxiques. Nous avons observé une de ces formes de gangrène gazeuse (cas B..., Dr Lardennois) où le blessé a succombé en quelques heures à une triple intoxication (cénotoxie).

En résumé, nous voyons qu'il est possible de reproduire sur le cobaye les différentes formes de la gangrène gazeuse, même les plus complexes.

Faute d'un nombre suffisant d'animaux, nous n'avons malheureusement pas pu réaliser toutes les expériences d'associations microbiennes et de mélanges de toxines que nous aurions jugé utile d'entreprendre.

Malgré cela nous pensons que l'ensemble des faits que nous apportons est suffisant pour établir définitivement le rôle considérable joué par les microbes anaérobies, seuls ou associés, dans les infections gazeuses.

Les recherches dont nous venons de résumer les résultats nous permettent d'indiquer la voie à suivre pour combattre efficacement les infections gazeuses.

Sans doute, depuis que les chirurgiens, instruits par l'expé-

rience, débrident largement et nettoient à fond toutes les plaies, et surtout depuis qu'ils procèdent à l'excision large des tissus infectés et meurtris, les cas de gangrène gazeuse sont devenus beaucoup moins fréquents. Malgré cela, on observe encore des cas mortels de gangrène gazeuse après chaque offensive et l'on peut affirmer que chaque fois que, pour une cause militaire imprévue, un grand nombre de blessés viennent affluer dans une formation sanitaire, la proportion des cas de gangrène gazeuse s'élève immédiatement.

Il était donc indiqué de rechercher quels services pourrait rendre la sérothérapie comme adjuvant du traitement chirurgical qui, à lui seul, reste encore trop souvent impuissant.

Pour résoudre ce problème, nous avons préparé un sérum contre chacun des trois microbes les plus dangereux des infections gazeuses (*B. perfringens*, V. septique, *B. œdematiens*).

Des injections massives de chacun de ces trois sérums ou de leur mélange (sérum mixte) nous ont donné des résultats encourageants, ainsi qu'en font foi les observations qui seront bientôt publiées.

Mais les résultats thérapeutiques obtenus ont été surtout favorables dans les infections gazeuses jugulées au début de leur évolution et chez les opérés qui ont été préservés de la récidive par des injections locales massives de sérum.

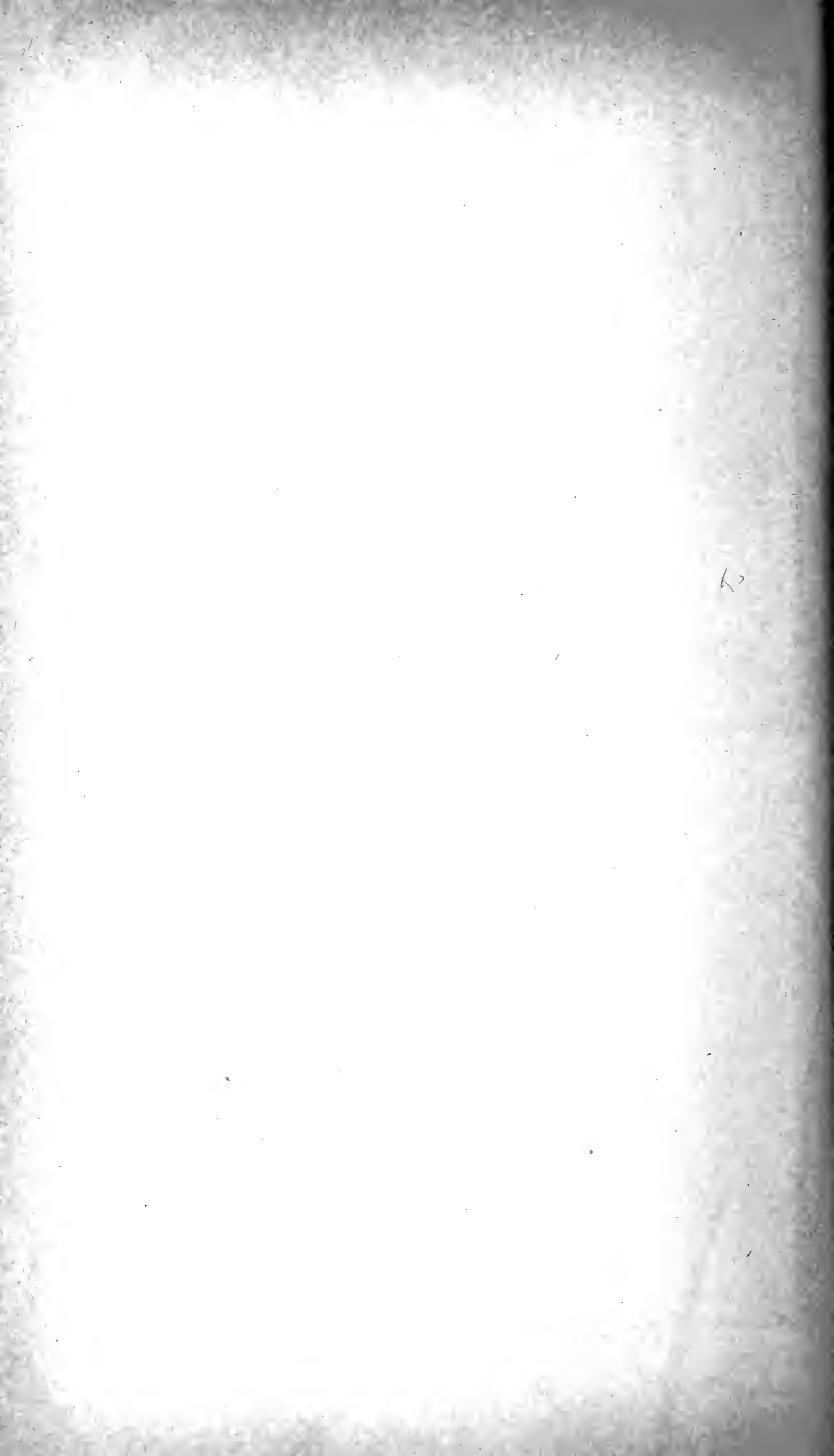
Notons également de bons résultats obtenus par N. Fiessinger dans quelques cas de gangrène gazeuse traités par le sérum mixte que nous lui avons fourni.

Quoi qu'il en soit, nos recherches expérimentales nous font penser que ce sérum mixte rendra plus de services encore comme sérum préventif que comme sérum curatif. Nous pensons que chaque soldat grièvement blessé devrait être injecté préventivement, aussitôt que possible, à la fois avec le sérum antigangreneux et le sérum antitétanique.

Mars 1917.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.



Ouvrage reçu par les ANNALES :

Laboratory Manual in GENERAL MICROBIOLOGY

Prepared by the
Laboratory of Bacteriology, Hygiene and Pathology
Michigan Agricultural College.

FIRST EDITION

NEW-YORK : John Wiley & Sons, Inc.
LONDON : Chapman & Hall, Limited
1916

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXXI. — 1917. Octobre. — N° 10.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE M. PASTEUR

PAR

E. DUCLAUX



PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : 18 francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : 20 francs.

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

SOMMAIRE DU N° 10

BULLETIN

DE LA

Société de Pathologie exotique

Siège de la Société : Institut Pasteur, Paris

Paraît 10 fois par an, 15 jours après chaque séance qui a lieu le 2e mercredi du mois, sauf en août et septembre.

Le volume de 1915, qui atteint 800 pages, avec figures dans le texte et planches hors texte, ne le cède en rien, malgré les circonstances, à ceux des années précédentes.

Prix de l'Abonnement :

France : 18 fr. — Union postale : 20 fr.

31e ANNÉE OCTOBRE 1917 N° 10

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

TRANSFORMATIONS DES ARSÉNOBENZÈNES ET LEUR ACTION SUR L'ORGANISME

(DEUXIÈME MÉMOIRE)

par J. DANYSZ.

Réactions du luargol dans le sang.

Quand on propose un produit nouveau pour l'usage thérapeutique, il importe, avant tout, de bien connaître son action sur l'organisme normal, les transformations qu'il subit lui-même et qu'il fait subir aux organes et aux tissus, de se rendre compte enfin sous quelle forme il doit être assimilé ou éliminé.

Ehrlich n'a publié rien de précis sur l'action et les transformations du 606 depuis qu'il a proposé ce produit pour le traitement de la syphilis.

Dans le mémoire précédent (1), ainsi que dans les notes présentées à l'Académie des Sciences (2), nous avons établi que les arsénobenzènes subissent dans l'organisme une série de transformations que l'on peut comparer à une digestion.

Injecté en solution alcaline, le luargol est d'abord précipité à l'état de base sous l'action des acides et des sels contenus

(1) Ces *Annales*, t. XXXI, p. 114, mars 1917.
(2) *Comptes rendus*, t. 163, p. 246, 535 et 985, 1916; t. 164, p. 746, 1917.

dans le sang et ensuite le précipité est redissous, probablement par une réaction analogue à celle que subit l'arsénobenzène quand on le traite par le formaldéhyde sulfoxylate de sodium pour obtenir le novoarsenobenzol, et par la fixation d'une base sur les oxhydryles. Ces deux réactions successives ont pour résultat de faire passer le produit de l'état colloïdal à l'état d'un sel.

Nous avons établi aussi que les arsénobenzènes provoquent dans l'organisme un ensemble de réactions identiques à celles produites par les antigènes biologiques.

Ainsi Ciuta et Riegler ont constaté pour l'arsénophénylglycine une hypersensibilisation des chevaux identique à celle que produisent les albumines étrangères. « Sur 5 chevaux injectés deux fois à 12 jours d'intervalle, 2 sont morts en cinq minutes, à la deuxième injection, d'un choc anaphylactique. » De même que pour les albumines étrangères, on peut vacciner les animaux sensibilisés contre ces crises anaphylactiques par des injections subintrantes.

Alt a constaté chez les animaux traités par le même produit une cuti-réaction analogue à celle que l'on obtient par la tuberculine chez les tuberculeux, et Dalimier a pu confirmer l'apparition de ces réactions pour le luargol.

Enfin, par les expériences qui suivent, nous avons pu provoquer la formation d'un *antiluargol*, c'est-à-dire d'un anticorps qui précipite le luargol de sa solution *in vitro*.

Expérience I. — 4 lapins (n°s 1, 2, 3 et 4) sont injectés chacun avec 0 gr. 20 centigrammes de disodoluargol dans les veines. On saigne les lapins respectivement 8 jours, 15 jours, 20 jours, 2 mois après cette injection, en même temps qu'un lapin neuf et on prépare du sérum avec leur sang. On mélange 10 cent. cubes de chacun de ces sérums avec 0 gr. 30 centigrammes de disodoluargol dissous dans 5 cent. cubes d'eau distillée. Le mélange n° 3 se trouble immédiatement, le n° 2 un peu plus tard, les n°s 1 et 4 encore plus tard. Le mélange avec le sérum du lapin neuf (n° 5) reste limpide.

Ces mélanges sont enfermés dans des ampoules scellées à vide. Après quelques jours de repos, on trouve un dépôt assez volumineux dans l'ampoule n° 3, moins volumineux dans les

nos 1, 2 et 4, quelques traces seulement dans le mélange fait avec le sérum du lapin neuf.

Dans l'ampoule n° 3, où le dépôt est le plus volumineux, le précipité ne forme qu'une très faible partie du luargol mélangé avec le sérum.

Pour analyser cette réaction de plus près, on mélange de petites quantités de luargol avec des quantités relativement plus grandes de sérum :

Expérience II — On mélange 10 gouttes de chacun des sérums avec 1/16, 1/8, 1/4, 1/2, 1 et 2 milligrammes de luargol en solution à 1 p. 100 dans l'eau distillée.

C'est le mélange du sérum n° 3, qui donne le plus rapidement le dépôt le plus abondant. A en juger par la couleur du liquide surnageant, la quantité de luargol précipité peut être évaluée à 1/3 de la quantité ajoutée, et c'est la plus grande proportion du précipité que nous ayons obtenue dans cette expérience. En effet, en augmentant les dilutions de luargol à partir du mélange 3, on voit diminuer la proportion du produit précipité et on arrive toujours, dans un sens et dans l'autre, à obtenir des mélanges parfaitement limpides. Ainsi, même dans les conditions les plus favorables, la majeure partie du luarguol reste toujours en solution. Le même sérum n° 3 chauffé à 65° ne donne plus de précipité dans les mêmes conditions.

Les sérums nos 1, 2 et 4 ont donné des résultats analogues, mais les quantités du luargol précipité étaient moins grandes.

Il résulte donc tout d'abord de cette expérience qu'une injection préparante de luargol provoque dans l'organisme la formation d'un anticorps précipitant dont la quantité augmente d'abord progressivement pour diminuer ensuite. La deuxième conclusion que nous devons en tirer, c'est que la réaction entre le luargol et le sérum précipitant n'est pas simple.

Quelles que soient les proportions de sérum et de luargol dans les mélanges, on n'obtient jamais la coagulation totale de ce dernier. On constate, en outre, que, dans certains mélanges, le précipité formé se redissout quelques minutes ou quelques heures après.

Pour expliquer les causes de l'allure particulière de ces réactions, il faut tenir compte de ces faits que, dans un sérum, il y a à la fois des fonctions acides et des fonctions alcalines en équilibre peu stable qui peuvent agir plus ou moins rapidement à tour de rôle sur le disodoluargol; que le luargol est soluble à l'état mono et disodique et aussi à l'état de composé mono et biacide (avec les acides chlorhydrique, phosphorique, citrique) et qu'en présence des sels contenus dans le sang, les composés « mono » précipitent plus facilement que les composés biacides ou bialcalins.

La fonction acide agissant d'abord, parce qu'il y a dans le sérum un peu d'acide carbonique libre, une partie du luargol précipite à l'état de base ; mais aussitôt après, c'est la fonction alcaline qui entre en jeu pour empêcher la coagulation de ce qui reste encore en solution et même pour redissoudre une partie du précipité déjà formé.

Dans le cas d'une hyperacidité du sérum, le précipité ne se formera pas, parce que certains composés acides du luargol sont également solubles.

Le résultat final de ces réactions dépendra donc toujours d'un état d'équilibre entre les fonctions acides et alcalines d'un sérum et il est important de noter que cet état d'équilibre peut être différent dans le sérum de chaque animal normal ou préparé par une ou plusieurs injections préalables.

La formation d'un précipité plus abondant dans les sérums d'animaux préparés indiquerait une prédominance temporaire de la fonction acide.

Le chauffage à 60-65° a pour effet de stabiliser, de fixer les fonctions acides et alcalines du sérum et de le rendre neutre pour le luargol. En ajoutant de l'acide à un tel sérum, on peut réactiver son action précipitante; en ajoutant de la soude, on réactive son action dissolvante et, en traitant de cette façon un sérum normalement neutre, chauffé et non chauffé, on constate qu'il faut davantage d'acide pour obtenir un précipité dans un sérum chauffé et plus d'alcali pour le redissoudre, que dans un sérum non chauffé.

Il n'est pas sans intérêt de rapprocher les résultats des expériences sur les réactions des arsénobenzènes que nous venons

de résumer avec ceux des expériences d'Ehrlich (1) sur les mesures de la valeur antitoxique des sérums antidiphtériques (valeurs Lo et L +) ainsi que des résultats de nos expériences sur la constitution des toxines (2) et sur les propriétés des mélanges des toxines avec leurs antitoxines (3) (ricine-antiricine, toxine-antitoxine diphtérique) et encore d'Arrhénius et Madsen sur le même sujet.

Il résulte, en effet, de ces expériences que l'antitoxine peut fixer une quantité de toxine supérieure à celle qu'elle peut neutraliser (fixation en surcharge) et qu'un mélange de toxine et d'antitoxine n'est jamais neutre. Un mélange inactif pour le cobaye est un peu toxique pour le lapin et encore plus toxique pour les petits oiseaux. De même, un mélange pathogène, mais non mortel, pour le cobaye est en même temps antitoxique pour le même animal.

Ces faits, qu'on ne pouvait qu'enregistrer au moment de leur publication, s'expliquent assez bien aujourd'hui à la lumière du mécanisme des réactions des arsénobenzènes pour lesquels, quand on mélange les deux « anti », la neutralisation n'est jamais complète, une bonne partie des deux produits restant toujours libre.

Tant que la constitution chimique des sérums et de ses anticorps nous sera inconnue, il ne sera guère possible de se faire une idée plus précise du mécanisme chimique de ces réactions; mais il est à prévoir que ce sont précisément des recherches de ce genre, dans lesquelles la composition d'un des éléments de réaction est exactement connue, qui nous donneront la clef du problème.

Pour le moment, il nous semble important de faire ressortir l'identité complète des réactions entre les sérums et les arsénobenzènes d'une part et d'autre part, entre les sérums et les antigènes biologiques (albumines, microbes et leurs sécrétions.

Il est plus que probable, en effet, que, dans les deux cas, la nature et le mécanisme des réactions sont les mêmes. C'est l'action des fonctions acides et alcalines des anticorps, favo-

(1) *Klin. Jahr.*, 1897.
(2) Ces *Annales*, t. XIII, p. 581, 1899.
(3) *Ibid.*, t. XVI, p. 331, 1902.

risée par certains sels et certaines substances telles que les lipoïdes, la lécithine, la cholestérine, qui provoquent la coagulation et la dissolution des antigènes.

L'action des fonctions acide et alcaline doit être constante et toujours la même (complément), comme dans la digestion stomacale et intestinale, tandis que la spécificité des anticorps serait déterminée par les différences dans la composition des substances favorisantes. Les résultats obtenus par Mac Donagh, par Bruck, dans leurs recherches sur la réaction séro-chimique dans la syphilis, ainsi que les recherches de Morgenroth sur la réactivation d'un mélange neutre de toxine et d'antitoxine diphtérique par l'acide chlorhydrique, nous confirment dans cette idée.

Dans tous les cas, quelles que soient l'origine et la nature de l'antigène, que ce soit une substance obtenue par synthèse, une albumine, un microbe pathogène ou sa sécrétion, pourvu qu'elle soit colloïdale ou qu'elle le devienne dans l'organisme, les transformations qu'elle subit dans l'organisme, ou du moins ce que nous en savons actuellement, nous obligent à admettre qu'il s'agit là d'un phénomène de nutrition.

L'organisme d'un animal ne peut se nourrir que de colloïdes et ne peut les assimiler qu'à la condition de les transformer en substances de son espèce. Cette transformation est opérée par la digestion, qui se fait normalement sans troubles dans l'appareil digestif (*milieu extérieur*) mais qui provoquera des troubles plus ou moins graves dans le *milieu intérieur* chaque fois que la quantité de la substance à digérer dépassera la capacité digestive de ce milieu à un moment donné et que le colloïde sera un antigène. Cette capacité digestive est non seulement fonction de la quantité de produit à digérer, mais aussi, et même surtout, fonction du *temps*. C'est surtout par la rapidité avec laquelle elle s'effectue, qu'une réaction peut troubler plus ou moins le fonctionnement normal des appareils, organes et tissus et devenir plus ou moins dangereuse.

En résumé, le luargol doit être considéré comme un antigène peu toxique d'une manière générale, et atoxique à doses thérapeutiques pour des sujets à constitution normale. *Ce produit doit donc être manié comme un antigène.*

En commençant le traitement par des doses vaccinantes,

ainsi que cela vient d'être indiqué par le Dr R. Dalimier (1), on peut vaincre toutes les intolérances.

Action sur l'organisme

Mais en outre de la coagulation dans le sang, qui peut déterminer, dans certaines conditions spéciales, des chocs anaphylactiques par la formation des embolies dans les capillaires, les arsénobenzènes peuvent encore être fixés dans les cellules de certains organes et de certains tissus.

Nous ne savons pas encore quelles sont les substances avec lesquelles les arsénobenzènes se combinent à l'intérieur des cellules. Des recherches prochaines nous l'apprendront probablement, mais nous pouvons affirmer dès à présent avec certitude qu'une certaine proportion de l'arsénobenzène, et plus particulièrement du luargol injecté, est fixé par les cellules et que le mécanisme de cette réaction ne peut pas être autre que celui que nous connaissons pour le sang.

Les dosages d'arsenic faits dans mon laboratoire par Mlle Michel (par la méthode de Bougault) ont donné, en effet, les résultats suivants :

Expérience IV. — On fait couler tout le sang d'un lapin saigné à blanc sur 10 centigrammes de luargol en solution dans 10 cent. cubes d'eau distillée, on agite fortement pour empêcher la coagulation et on laisse en repos pendant 24 heures.

On centrifuge le liquide et on obtient 38 cent. cubes de liquide brunâtre et 30 cent. cubes de dépôt. A l'analyse on trouve :

dans le liquide	4,62 mgr. d'arsenic,
dans le dépôt	15,37 mgr. —

c'est-à-dire la totalité des 20 milligrammes d'arsenic contenus dans 10 centigrammes de luargol, dont un quart environ est resté en solution dans le sérum et dont les trois autres quarts ont été précipités et fixés sur les éléments figurés du sang. Il s'est formé une très petite quantité de fibrine coagulée

(1) R. Dalimier, *Comptes rendus*, t. 164, p. 836, 21 mai 1917.

et on a trouvé un peu d'un précipité glaireux de luargol dans le dépôt en dehors des cellules.

Expérience V. — On injecte à un lapin 10 centigrammes de luargol dans 10 cent. cubes d'eau distillée dans la veine de l'oreille et on le saigne 24 heures après. On recueille en même temps l'urine émise pendant ces 24 heures et celle contenue dans la vessie, ainsi que les matières fécales et le contenu intestinal aussitôt après la saignée.

On centrifuge le sang et on trouve :

Dans 55 cent. cubes de coagulum, environ.	1 mgr.	d'arsenic	3,5 mgr.
— 37 cent. cubes de sérum	2,5 mgr.	—	
Dans 275 cent. cubes d'urine	2,5 mgr.	d'arsenic	5,5 mgr.
— 90 grammes de matières fécales . . .	3,2 mgr.	—	

Ce qui veut dire qu'un peu plus de 1/4 du luargol injecté a été éliminé en 24 heures par les reins et par l'intestin, environ 1/8 est resté dans le sérum à l'état de luargol non transformé, et 1/16 a été absorbé et fixé dans les éléments du sang en circulation jusqu'au moment de la saignée. En évaluant à 10 p. 100 la quantité de sang qui est restée dans les vaisseaux, on peut donc affirmer qu'après 24 heures la moitié à peu près des 10 centigrammes de luargol injecté est restée fixée dans les organes ou les tissus.

En comparant les dosages de l'expérience V avec ceux de l'expérience IV, c'est-à-dire en tenant compte de la proportion très forte (3/4) de luargol précipité et fixé par les éléments figurés du sang dans un mélange *in vitro*, et de la proportion très faible (1/16) que l'on trouve dans le coagulum 24 heures après l'injection, chez le lapin injecté, on doit admettre que la majeure partie du luargol resté dans l'organisme a été fixée par les éléments du sang, probablement surtout par les leucocytes, et transporté dans le foie, la rate et les organes hémopoïétiques.

En dosant l'arsenic éliminé jour par jour à la suite d'une seule injection, Mlle Michel a trouvé, dans certains cas, des traces d'arsenic encore 24 jours après l'injection d'une dose de 10 centigrammes à un lapin de 2 kilogr. 500. Dans ces cas, l'élimination n'est pas régulière, elle se fait par des décharges

successives (Emery, Jeanselme) à des intervalles de 3, 4 ou même 8 jours. La quantité proportionnellement la plus considérable est éliminée dans les 24 premières heures et 3 à 4 jours après l'injection.

En évaluant la quantité totale de l'arsenic éliminé, on trouve qu'à quelques dixièmes de milligramme près, l'organisme ne retient rien du composé arsenical injecté sous forme de luargol.

Il résulte de l'ensemble d'un grand nombre de ces dosages que la *durée de l'élimination* ainsi que les proportions de l'arsenic éliminé par les reins et par l'intestin varient beaucoup d'un sujet à un autre à la suite d'une seule injection et, dans le cours d'un traitement, à la suite d'une série d'injections successives.

En résumant les résultats de tous ces dosages, on peut en tirer les conclusions suivantes :

1° *Dans les cas normaux.*

a) L'élimination de l'arsenic du luargol est totale.

b) Après une seule injection, la durée de l'élimination peut être de 7 à 24 jours; elle est généralement, mais pas toujours, plus abondante par l'intestin que par les reins.

c) Quand on fait précéder l'injection proprement dite par une injection vaccinante (1/20 à 1/50 de la dose totale), la durée de l'élimination est plus courte.

d) Quand on fait des injections en séries, la quantité d'arsenic fixée par les tissus devient de plus en plus petite pour chacune des injections successives.

2° *Dans les cas anormaux.*

On peut admettre que les tissus ou organes qui sont le siège d'une congestion fixeront et retiendront une quantité plus grande de luargol que les tissus sains. C'est de cette façon qu'on peut expliquer la destruction rapide des tréponèmes dans les chancres et les plaques muqueuses, les « réactions de Herxheimer » ainsi que les troubles rénaux, intestinaux, hépatiques ou nerveux produits par l'injection d'un arsénobenzène dans les cas de lésions préexistantes, d'origine syphilitique ou autre de ces organes.

LE LUARGOL

(OU 102 DE DANYSZ)

EN THÉRAPEUTIQUE HUMAINE

par R. DALIMIER.

INTRODUCTION

Le luargol (ou 102 de Danysz) présente cette particularité de contenir du bromure d'argent et de l'antimoine combinés à l'arsenobenzol (606). Les proportions réciproques de ces composants sont les suivantes :

Disodo-luargol.

Arsenic	18,08 p. 100
Brome	10,20 —
Argent	13,65 —
Antimoine	1,95 —

On sait d'autre part que le taux de l'arsenic est de 33 p. 100 dans le salvarsan et de 20 p. 100 dans le néo-salvarsan. Des trois, le 102 est donc le moins chargé en arsenic. La quantité d'arsenic dans un composé de ce genre joue évidemment un rôle important, mais ce rôle n'est pas principal. On peut en donner comme exemple ce fait que la notoire infériorité d'activité thérapeutique du 914 paraît tenir bien plus au bloquage de sa fonction amine par le groupe solubilisant « monométhylène sulfoxylate de soude » qu'à sa proportion amoindrie d'arsenic.

De même, on constate que les préparations cristalloïdes d'argent n'exercent pas d'action appréciable sur les trypanosomes *in vivo*, tandis que l'addition de bromure d'argent à l'arsenic (produit 88) augmente notablement l'action du 606 sur ces parasites.

On peut en conclure que l'action thérapeutique ne résulte

pas tant de la proportion de chaque composant que de la nature physico-chimique du composé. C'est ainsi que Mac Donagh (1), se basant uniquement sur la production des réactions strictement chimiques d'oxydation et de réduction dans l'organisme, emploie contre la syphilis deux composés qui sont un ferro et un sulfo-benzène, ne contenant aucun principe antiseptique proprement dit et qui, néanmoins, ont une influence sur les tréponèmes. S'il faut, de ces produits, une dose dix fois plus forte (1 gramme d'intramine par injection) qu'avec le 102, pour l'obtention de résultats équivalents, c'est que les éléments choisis par Mac Donagh n'ont aucune affinité spécifique pour les parasites.

Il ressort, en somme, de tous ces faits que l'activité thérapeutique d'un composé est fonction de deux facteurs : l'affinité de ses éléments et la nature de leur groupement, les proportions réciproques ayant une importance plus secondaire.

Pour ce qui est de la nature du groupement, on sait maintenant que le 606 et le 102 ont ce caractère commun de devoir être considérés comme des colloïdes, tandis que le 914 a tous les attributs d'un cristalloïde, ce qui explique que l'action de celui-ci sur l'organisme et sur les parasites soit tout autre que celle des deux premiers. Le 914 ne demande aucune transformation dans le milieu intérieur pour être assimilé, tandis que le 606 et le 102 subissent dans le sang et dans les tissus une série de modifications dont le mode ne paraît pas étranger à leur activité thérapeutique.

Quant aux affinités chimiques des composants, il y a avantage à les multiplier, soit pour permettre au médicament d'exercer son action sur plusieurs espèces différentes de parasites, soit pour concentrer sur une même espèce la coalition de ses principes réunis, surtout importante dans les cas où une chimio-résistance a pu se produire. La supériorité du 102 sur le 606 doit résulter de la multiplicité de ses affinités et aussi de la spécificité des affinités du bromure d'argent et de l'antimoine pour certains parasites. Cette différence en faveur du 102 a été constatée expérimentalement sur le *Trypanosoma*

(1) Mac Donagh, *The Lancet*, 13 et 20 mai 1916.

gambiense dans la spirillose des poules, dans la fièvre récurrente et dans la syphilis.

Une autre vérification peut être faite par la détermination de l'écart qui sépare dans les composés arsenicaux la dose tolérée de la dose curative. Dans le traitement des trypanosomiases le rapport de ces deux doses s'est montré le suivant :

Atoxyl	3 : 4
Arsénophénylglycine	1 : 3
(606) Arsenobenzol	1 : 10
Luargol	1 : 80 à 1 : 100

Le 102 a donc révélé une activité parasiticide 75 fois plus grande que celle de l'atoxyl, 30 fois plus grande que celle de l'arsénobenzol (606) (1).

La physionomie du médicament introduit par M. Danysz dans la thérapeutique étant ainsi précisée, nous pouvons maintenant aborder l'étude des propriétés curatrices du luargol chez l'homme en essayant de distinguer les bénéfices que l'addition de bromure d'argent et d'antimoine a pu apporter au salvarsan dont les effets sont bien connus actuellement.

I

ACTION DU LUARGOL DANS LES SPIRILLOSES

A. — ACTION SUR LES PARASITES

Dans la syphilis, l'action du luargol sur les parasites est la même que celle que l'on connaît au 606 et au 914 : en 24 heures

(1) Toutes les considérations qui précèdent résultent de la série de travaux que M. Danysz a consacrés à ces questions et qui ont paru dans ces mêmes *Annales* (voir, pour la bibliographie, l'article ci-dessus). Nous devons, d'autre part, ajouter que, parallèlement à M. Danysz qui l'ignorait, Ehrlich, convaincu, lui aussi, de la nécessité d'apporter à son produit initial des améliorations, s'était engagé dans la même voie des combinaisons plurimétalliques de l'arsenobenzol (Ehrlich et Karrer, *Berichte*, octobre 1915). Il avait même fait expérimenter par M[lle] Leupold sur les trypanosomiases un composé cuprique très actif, mais qui s'est malheureusement montré plein de dangers chez l'homme, entre les mains de Van den Branden, dans la maladie du sommeil, et de Milian, dans la syphilis (*Paris médical*, 6 mai 1916).

[Renaut, Fournier et Guénot (1)] ou, au plus tard, en 4 ou 5 jours [Hudelo et Montlaur (2)] les tréponèmes disparaissent de la surface des lésions cutanées ou muqueuses. Il n'y a de particulier que la différence des doses qui concourent à remplir ce but : 0,05 à 0,10 centigrammes pour le luargol; 0,25 centigrammes pour le salvarsan; 0,40 à 0,45 pour le néo-salvarsan.

Dans la fièvre récurrente, Yakimoff (documents inédits) a constaté le même fait; il suffit de 0,15 centigrammes de luargol pour provoquer la disparition des spirilles d'Obermeier, alors que pour le même résultat 0,30 de salvarsan et 0,45 de néo-salvarsan sont nécessaires.

Le tableau suivant indique, avec les différentes doses dont nous venons de parler, la quantité d'*arsenic* qu'elles contiennent.

Doses comparées de stérilisation des lésions
(*Poids total et poids d'arsenic*).

	TRÉPONÈMES	SPIRILLES D'OBERMEIER
	—	—
Salvarsan.	0,25 cent.	0,30 cent.
Arsenic (33 p. 100)	**0,08** —	**0,10** —
Néo-salvarsan	0,40 —	0,45 —
Arsenic (33 p. 100).	**0,08** —	**0,09** —
Luargol	0,10 —	0,15 —
Arsenic (18 p. 100)	**0,018** —	**0,027** —

Les doses de luargol qui amènent la stérilisation des lésions représentent donc le 1/4 ou au plus le 1/3 des doses de 606 et de 914 qui remplissent le même office. Il paraît difficile, dans ces conditions, d'admettre que l'arsenic du luargol intervienne seul dans l'action parasiticide si marquée de ce médicament et on ne peut faire autrement que d'attribuer une grande importance à la présence de l'argent, de l'antimoine et du brome dont le pouvoir parasitotrope est d'ailleurs bien connu. Tous ces faits confirment donc les observations faites chez les animaux.

(1) Renaut, Fournier et Guénot, 550 cas de syphilis traités par un composé organique d'arsenic, de bromure d'argent et d'antimoine. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences,* 29 novembre 1915.

(2) Hudelo et Montlaur, *Soc. méd. des Hôpitaux*, 21 juillet 1916; Hudelo, *Paris médical*, 5 mai 1917.

B. — ACTION SUR LES MANIFESTATIONS DE LA SYPHILIS

MANIFESTATIONS BANALES

1. Période primaire.

Les constatations cliniques faites à cette période corroborent l'action parasiticide que nous venons de noter. Le chancre induré normal se cicatrise sous l'influence du 102 en 10 ou 12 jours (Renaut, Fournier et Guénot, Milian, etc...); nous l'avons même vu quelquefois disparaître en moins de temps encore, en 8 jours. Cette influence du luargol sur l'accident primaire de la syphilis est tout à fait équivalente à celle de l'arsenobenzol, avec une rapidité d'action peut-être un peu plus grande encore, et une dose de médicament bien moindre, à coup sûr, puisqu'à ce moment-là, le malade n'a reçu que deux ou trois injections, soit 0,15 à 0,30 de luargol.

Il nous a paru, dans plusieurs cas, que l'adénopathie correspondante régressait plus vite et plus complètement chez les malades soignés avec le 102 que chez ceux qui recevaient d'autres traitements. Hudelo et Montlaur, Emery et Morin (1) ont fait la même constatation, qui est intéressante en ce sens que l'étape ganglionnaire de la migration des tréponèmes représente la dernière barrière opposée par l'organisme à la généralisation des parasites et que tout coup porté dans ce foyer de lutte naturelle doit nécessairement influencer l'évolution ultérieure de la maladie.

Nous avons traité par le luargol, avec Lévy-Frankel (2), un certain nombre de chancres compliqués; nos résultats ont été les suivants : trois chancres phagédéniques énormes, dont l'un atteignait les dimensions d'une paume de main, ont guéri en 15 jours avec une dose totale de 1 gramme de médicament. Un chancre gangreneux de la verge, qui avait perforé le fourreau et provoqué un volumineux œdème des tissus, s'est cicatrisé en 8 jours avec 0,60 centigrammes de 102.

(1) Emery et Morin, *Paris médical*, 5 mai 1917.
(2) Dalimier et Lévy-Frankel, *Comptes rendus*, t. 162, p. 440, 20 mars 1916.

2. Période secondaire.

Nous n'insisterons pas sur la rapide disparition de la roséole, des accidents muqueux et cutanés ordinaires, car cette guérison est monnaie courante en arsénothérapie ; dans un laps de temps qui va de 2 à 6 jours toutes ces manifestations banales s'effacent avec le luargol comme avec le salvarsan. Il nous faut noter, cependant, le pouvoir cicatrisant que le 102 a manifesté dans deux cas sur des syphilides ulcéreuses. Dans un cas qui avait résisté à l'huile grise et dans un autre, rapporté par Milian, où le salvarsan avait échoué, la guérison fut rapidement obtenue par le luargol.

Ici encore, nous devons répéter que ce qui est frappant, bien plus que le résultat obtenu, c'est la dose mise en œuvre. Dès la première injection, les lésions « accusent le coup » par une modification de leur aspect et, la plupart du temps, il suffit de 15 ou 20 centigrammes pour amener leur disparition.

3. Période tertiaire.

MM. Hudelo et Montlaur insistent tout spécialement sur la rapidité avec laquelle les gommes syphilitiques se résorbent sous l'influence du 102. MM. Renaut, Fournier et Guénot avaient fait la même constatation.

Parmi les cas de syphilis tertiaire grave soumis par Lévy-Frankel et par nous à l'action du luargol, nous citerons les suivants qui nous paraissent particulièrement démonstratifs :

Syphilis maligne précoce.

1° Une gomme ulcérée de la région mastoïdienne, du volume d'une mandarine, apparue 9 mois après le chancre, guérie en 11 jours, avec 0,90 centigrammes de 102;

2° Un sarcocèle syphilitique survenu 10 mois après l'accident primaire, disparu en 10 jours.

Syphilis tertiaire rebelle.

Un cas de syphilide tertiaire rupiacée couvrant tout le thorax, *ayant résisté à trois injections de néo-salvarsan* (0,90)

et à deux injections d'huile grise (stomatite mercurielle) : dès la 4e injection (0,70), les lésions sont nettement améliorées (soit *en arsenic* : 0,126, tandis que 0,18 d'As du 914 n'avaient rien donné). Cette syphilide étendue et rebelle guérit complètement en deux mois, avec 2 gr. 90 de luargol, soit 0,522 d'arsenic.

Ozène. — Nous avons observé la guérison de deux cas d'ozène très marqués, en cinq injections et un total de moins de 1 gr. de 102.

En somme, l'action du luargol dans le traitement des manifestations banales de la syphilis est tout à fait semblable à celle du salvarsan et, en dehors de cette similitude, il n'y a à noter que la petitesse des doses de 102 qui aboutissent à cette équivalence de résultats thérapeutiques.

L'étude du 102 opposé aux manifestations viscérales et nerveuses de la syphilis est au contraire plus intéressante et mérite de retenir l'attention.

SYPHILIS VISCÉRALE

Aortites. — Le premier cas que nous avons traité, en collaboration avec Lévy-Frankel, nous a conduit à penser que le 102 présentait une action curative toute spéciale sur les lésions syphilitiques de l'aorte et du tissu périaortique. En voici l'observation résumée :

X..., vétérinaire-major. Syphilis en 1888, traitée par des pilules de protoiodure. Plus de traitement jusqu'en 1906; à ce moment, 2 cures d'iodure de potassium, qui est mal supporté.

En 1914, a commencé à s'apercevoir de l'apparition de « battements de cœur » dans les efforts. En 1915, douleurs thoraciques et cervicales. Série d'injections de biiodure de mercure mal supporté (stomatite). Le 13 janvier 1916, nous constatons les troubles fonctionnels suivants : oppression dans la station horizontale, insomnie, douleurs thoraciques, voix rauque, inégalité des deux pouls. A l'auscultation, double souffle râpeux à l'orifice aortique; battements de la crosse dans l'espace sus-sternal. Radiographie (Dr Degouy, d'Amiens) : l'ombre très développée dans le sens fronto-latéral et en projection orthogonale empiète largement sur la colonne vertébrale et l'extrémité sternale des clavicules.

Traitement : du 13 au 27 janvier 1916 : 5 injections de 102 : 0,05; 0,10; 0,10; 0,10.

Le sommeil est meilleur dès la 2e piqûre; après la 5e, l'oppression a

diminué, les deux pouls semblent égaux. Du 6 au 20 février, 5 injections de 102 : 0,10; 0,10; 0,15; 0,20; 0,20. Amélioration notable. L'oppression et l'insomnie ont disparu, la voix est normale. Les souffles de la base sont devenus doux. Radiographie : amélioration considérable; espace clair d'un centimètre entre l'aorte et la colonne vertébrale; l'ombre aortique n'atteint plus les articulations sterno-claviculaires. Du 18 au 20 mars : 5 injections : 0,10; 0,20; 0,20; 0,25; 0,30. L'amélioration s'accentue, le centre supérieur des battements n'est plus perceptible à l'inspection et à peine à la palpation. Les battements sus-sternaux sont très diminués et se rapprochent de la normale.

A ce moment-là, le malade a subi un traitement de 68 jours seulement et n'a reçu au total que 2 gr. 25 de 102.

Ultérieurement, il a reçu une nouvelle série d'injections à la suite de laquelle l'ombre aortique s'est montrée à peu près normale, si bien que cet officier, qui avait été mis en congé, a pu remonter à cheval et reprendre le service d'une activité physique très marquée dont il est chargé au front de guerre.

Nous n'ignorons pas que le salvarsan et le néo-salvarsan ont été employés, eux aussi, dans le traitement de l'ectasie syphilitique de l'aorte et qu'ils ont parfois donné des résultats intéressants. Mais on sait avec quelle extrême prudence ces deux médicaments, si fortement vaso-dilateurs, doivent être manipulés dans ces circonstances qui, naguère encore, avaient été rangées parmi les contre-indications formelles à leur emploi. Les doses de 102 qui ont été employées sont au contraire extrêmement réduites et n'ont donné lieu à aucune espèce de réaction de l'organisme.

Il y a là une particularité qui mérite d'être soulignée et que les cas que nous avons été amené à traiter depuis 1916 n'ont fait que confirmer. C'est aussi l'avis d'Emery et de Morin qui, après 5 injections dans 1 cas et 12 dans l'autre, ont constaté une notable amélioration des troubles fonctionnels au cours d'aortites syphilitiques.

MANIFESTATIONS NERVEUSES

L'étude du luargol dans les manifestations nerveuses de la syphilis constitue un des chapitres les plus intéressants de l'action de ce médicament. On sait que le salvarsan et le néo-salvarsan n'ont qu'un bien faible pouvoir curateur sur les déterminations de la syphilis qui ont pour siège l'axe cérébro-spinal et ses enveloppes. Cette précarité de leur action a conduit un certain nombre d'auteurs à mettre leur espoir

dans la multiplication des injections et dans l'augmentation considérable des doses (1 gramme et plus par injection, Leredde). L'avenir dira si les résultats sont en proportion directe de l'intensité de cette chimiothérapie, qui bien souvent ne peut être poursuivie à cause des phénomènes d'intolérance qui se manifestent. Il semble que l'arsenic, qui a une affinité si grande pour les tissus cutanés et muqueux, n'ait qu'une faible propension, au moins par la voie vasculaire générale, à aller agir sur le système nerveux. Lorsqu'on a parlé du neurotropisme du salvarsan, Ehrlich a montré lui-même, à l'aide de son réactif du 606, la diméthylamidobenzaldéhyde, que l'on ne pouvait mettre en évidence la moindre trace d'arsenic dans le tissu nerveux central des animaux injectés et nous avons pu nous convaincre, à cette époque, de la réalité de cette constatation par des recherches analogues.

Le 102, au contraire, se présentait avec les attributs d'un médicament particulièrement doué pour agir sur les manifestations nerveuses de la syphilis. Le brome et l'argent sont depuis longtemps classés parmi les agents thérapeutiques actifs dans les affections nerveuses et leur association avec l'arsenic du 606 semblait devoir leur conférer un pouvoir parasiticide capable de s'exercer dans les centres.

L'épreuve que nous avons tentée dès le début, Lévy-Frankel et moi, dans ce sens, a donné les résultats encourageants que voici :

G... (Charles), trente et un ans, soldat au 9e d'artillerie. Chancre il y a sept ans. Entre le 26 janvier 1916 à l'hôpital avec les signes d'une myélite syphilitique du type syndrome de Brown-Séquard incomplet, du côté droit. Parésie droite, hypoesthésie notable remontant jusqu'à l'ombilic, exagération des réflexes avec trépidation épileptoïde. Babinski positif des deux côtés. Réflexes abdominaux abolis, réflexes de défense exagérés jusqu'à la deuxième dorsale. Rétention d'urine, cystite purulente. Incontinence des matières. Le 28 janvier 1916, injection de 0,05 de luargol. Le 2 février 1916, injection de 0,10. Les injections sont bien supportées. La parésie est déjà améliorée, l'incontinence des matières a beaucoup diminué. Les urines sont claires (on avait pratiqué des lavages vésicaux au nitrate d'argent). Après la 3e injection de 102 (0,15) le malade peut se tenir debout, les sphincters sont devenus normaux. Après la 4e injection (0,15), le malade peut faire le tour de son lit. Le traitement est suspendu à ce moment-là, en raison d'un léger subictère.

Il est frappant de voir des phénomènes d'origine spinale, somme toute très accusés, céder aussi rapidement à des doses

aussi faibles, et ici encore nous avons constaté dès la première injection une amélioration appréciable du complexus symptomatique. Le salvarsan ne nous a jamais donné un résultat aussi décisif.

D'autres cas de myélite, traités par le 102, ont été rapportés depuis. MM. Hudelo et Montlaur relatent un cas de méningo-myélite de la queue de cheval, un cas de myélite diffuse et un autre de myélite spasmodique. Dans les deux premiers, ils constatèrent tout d'abord une amélioration des troubles urinaires, puis des troubles locomoteurs. Par contre, dans la forme spasmodique, le traitement par le 102 aurait exagéré les troubles dont souffrait le malade. Nous reviendrons, à propos du tabes, sur les phénomènes d'exagération symptomatique qui peuvent se produire sous l'influence de l'arsénothérapie.

Emery et Morin formulent à propos des localisations nerveuses leur opinion d'une manière plus générale en disant qu'avec le luargol « dans les artérites et les méningites chroniques, ils ont observé des résultats au moins comparables à ceux donnés par l'arsenobenzol ».

Il est regrettable que tous ces auteurs n'aient point indiqué les doses de luargol qu'ils ont employées dans ces circonstances, car ce document aurait permis d'apprécier plus clairement la différence d'activité du 102 et du 606 dans le traitement de la syphilis nerveuse, différence qui ressort nettement en tout cas de l'observation que nous avons publiée ci-dessus.

Signalons enfin qu'Emery et Morin relatent une influence favorable du luargol dans différentes manifestations nerveuses de la vérole : un cas de paralysie faciale guéri en 4 injections, une paraplégie vieille de deux ans, une radiculite, 3 cas de céphalée avec lymphocytose rachidienne qui ont largement profité du traitement.

Nous n'ajouterons à cette liste qu'un cas de cette curieuse variété de céphalée syphilitique ophtalmoplégique que Poulard a décrite (1) récemment, et qui est encore en cours de traitement, mais que les 4 premières injections de luargol (0,30) ont déjà un peu améliorée, surtout au point de vue du ptosis.

(1) Poulard, *Progrès médical*, 20 janvier 1917.

PARASYPHILIS (TABES)

Le 102 n'a été étudié jusqu'ici que dans le tabes. Il ressort des observations que nous avons pu faire à ce sujet et des indications qui ont été publiées par différents auteurs que son action, au cours de cette maladie, porte sur trois ordres de symptômes :

1° Douleurs fulgurantes.

On constate très fréquemment — dans la moitié des cas (Hudelo et Montlaur) — une sédation très marquée de ces douleurs sous l'influence du 102. Il arrive quelquefois, par contre, que le traitement réveille ou exagère les douleurs en éclair. Cette phase de réapparition ou d'augmentation des troubles est d'une durée passagère et ne semble pas constituer un obstacle à la continuation du traitement, car il est habituel de constater par la suite une amélioration plus marquée du syndrome tabétique. Cette aggravation initiale semble devoir être rapprochée de celle que MM. Hudelo et Montlaur ont remarqué dans le cas de myélite à forme spasmodique relaté plus haut. Dans cet ordre de faits particulier, tout se passe comme si, dans certaines dispositions anatomiques des lésions, le traitement spécifique produisait une hyperémie locale passagère, dont l'action surajoutée augmenterait les réactions morbides sensitives ou motrices. Cette particularité thérapeutique n'appartient d'ailleurs pas en propre au 102, car des observations semblables ont été faites avec le mercure et avec l'arsenobenzol, ce qui conduit à penser qu'il s'agit d'un phénomène d'ordre spécifique ayant plus d'un point d'analogie avec ce que la réaction d'Herxheimer traduit à nos yeux pour les lésions cutanées.

2° Troubles des réservoirs.

Il résulte des constatations faites jusqu'à ce jour que ces troubles sont ceux qui, le plus constamment, bénéficient du traitement par le luargol. Dès les premières doses, les phé-

nomènes d'incontinence ou de rétention sont impressionnés et, en général, ils cèdent rapidement. Il y a lieu de rappeler, ici encore, que dans les myélites syphilitiques, le même fait a été constaté.

3° Troubles locomoteurs.

Parésie musculaire. — L'impotence fonctionnelle des membres inférieurs s'est montrée influencée très complètement dans quelques cas. Nous possédons une observation concernant un vieux tabes dont l'impotence totale des membres inférieurs a été, après une série d'injections (1 gr. 50 de 102), améliorée au point que le malade a pu se tenir debout et marcher dans la chambre; après une seconde cure, il peut descendre un étage et faire des promenades en voiture.

Incoordination motrice. — Les phénomènes d'ataxie sont plus difficiles à atteindre; néanmoins, nous avons, dans deux cas, pu obtenir une amélioration certaine dans la coordination des mouvements.

De tous ces faits, on est en droit de conclure que le 102 possède des propriétés thérapeutiques vis-à-vis du tabes. Il y a lieu d'ailleurs de faire intervenir dans les résultats un facteur important trop souvent négligé, le temps, ainsi que le prouve l'observation suivante dans laquelle une amélioration considérable s'est produite cinq mois après la fin du traitement :

Ar..., cinquante-trois ans, financier. Syphilis à vingt-trois ans. A trente-huit ans, installation progressive d'un tabes classique. Traitement, sans grand résultat, par le mercure et l'hectine. En 1916, à cinquante-deux ans, il existe encore : des douleurs fulgurantes intermittentes, de l'engourdissement avec parésie des membres inférieurs qui gênent la marche, Argyll, Romberg, etc... Cure de luargol. Les premières injections réveillent les douleurs fulgurantes et à la fin de la série d'injections (1 gr. 50) le malade ne ressent aucune amélioration. Il ne fait plus aucun traitement.

Cinq mois environ après le traitement par le 102, disparition progressive des douleurs fulgurantes et amélioration de la parésie des membres inférieurs; le malade signale de plus le réveil de ses instincts génésiques.

Actuellement, l'amélioration se maintient, après un an, la marche est à peu près normale et il n'existe plus de douleurs.

Il résulte de cette observation que l'action médicamenteuse paraît persister pendant un temps assez long et cette constata-

tion cadre bien avec ce que les analyses ont révélé comme rythme d'élimination du composé arséno-bromo-argentique. Il n'y a donc pas lieu de se hâter de conclure, après une série de traitement, à son inefficacité.

Quoi qu'il en soit, il est nécessaire d'ajouter que, même dans les cas les plus favorables, on ne peut jamais constater de modification dans les phénomènes de réflectivité du tabes traité.

Les résultats que nous venons de rapporter paraissent assez différents de ceux que l'on obtient dans cette maladie avec le salvarsan et le néo-salvarsan. Les arsénobenzènes simples ont quelquefois une action sur les troubles sphinctériens et les douleurs fulgurantes, mais d'une manière moins constante et moins profonde. C'est ce qui explique que l'on ait été amené, pour activer les résultats, à l'emploi de doses considérables de 606 ou de 914. Il ne semble pas d'ailleurs ressortir de cette technique des avantages thérapeutiques proportionnels, tandis qu'il en résulte des inconvénients certains dans la tolérance du médicament.

En réalité, comme nous l'avons vu, il y a là, à côté de la question du pouvoir parasitotrope des médicaments, une question d'affinité des produits pour tel ou tel tissu de l'organisme, et l'addition de brome d'argent à l'arsenobenzol paraît bien avoir fait faire un pas en avant à la question du traitement des localisations nerveuses du tréponème, puisque, au moyen de doses d'un quart ou d'un tiers inférieures à celles du 606 ou du 914, le 102 réalise des résultats thérapeutiques plus marqués. Il y a donc lieu d'admettre la mise en jeu de ces composants doués d'affinités non douteuses pour les éléments du système nerveux central.

C. — ACTION SUR L'ÉVOLUTION GÉNÉRALE DE LA SYPHILIS

La chimiothérapie arsenicale de la syphilis est de date encore trop récente pour que l'on puisse actuellement se rendre compte de l'influence qu'elle exerce sur l'évolution des manifestations éloignées de la vérole (tertiarisme nerveux, parasyphilis) chez les malades traités par elle dès le début de leur affection. A plus forte raison, ne pouvons-nous maintenant préjuger de l'action que peut avoir à cet égard le luargol.

Mais, à défaut d'une opinion sur le lointain de la tréponémie, nous sommes en mesure d'apprécier l'action de ce médicament sur l'évolution de la syphilis actuelle.

ABORTION DE LA SYPHILIS

MM. Renaut, Fournier et Guénot ont attiré l'attention sur les cas dans lesquels un traitement précoce de la syphilis primaire leur a permis d'obtenir tous les signes d'une guérison vraie de la maladie. « Chez les malades, disent-ils, porteurs d'un chancre syphilitique de quelques jours et chez lesquels la réaction de fixation était négative au moment du traitement, l'évolution de la maladie a semblé enrayée et la réaction est restée jusqu'à présent négative; or, plusieurs de ces malades ont été traités depuis plus d'un an. » Emery et Morin ont cité, eux aussi, des cas du même genre qu'ils n'hésitent pas à qualifier de « stérilisation définitive », et nous-même avons observé des faits entièrement superposables à ceux que ces auteurs relatent.

Qu'il s'agisse ou non de la guérison définitive, vraie, de la syphilis (l'accord n'est pas encore fait sur ce point), il résulte néanmoins de ces observations que le composé 102 présente les mêmes facultés abortives que le 606 vis-à-vis de la syphilis primaire à son début, et avec des doses de beaucoup inférieures.

ACTION SUR LA RÉACTION DE FIXATION

L'étude de la déviation du complément chez les malades traités par le luargol aboutit à cette constatation que l'influence de ce produit sur elle est entièrement comparable à celle du 606 (Renaut, Fournier et Guénot, Raspail, etc...). La dose de 102 nécessaire avait tout d'abord été chiffrée par Raspail à 1 gramme ou 1 gr. 20; depuis, Hudelo et Montlaur ont indiqué 1 gr. 50 à 2 grammes. Il est évident que le coefficient individuel joue, dans cet ordre d'idées, un rôle prépondérant; toutefois, il ressort de nos observations personnelles que, dans la moyenne des cas, la dose négativante de luargol est autour de 2 grammes (représentant 0,36 centigrammes d'arsenic), très inférieure par conséquent aux doses négativantes de salvarsan ou de néo-salvarsan.

Le temps de négativation est de 4 à 6 semaines, comme avec les arsénobenzènes.

II

ACTION DU LUARGOL SUR L'ORGANISME

A. — ACTION EUTROPHIQUE

Il résulte de l'observation clinique quotidienne des syphilitiques en traitement comme des recherches de M. Montpellier (1) sur le sang des paludéens soumis à son action, que le luargol exerce une action eutrophique sur l'organisme, tout à à fait comparable à celle que Jacquet avait fait remarquer pour le 606. L'augmentation de poids, l'excellence du facies (Milian), le retour de la force musculaire, de l'appétit, etc... sont constants. Dans le paludisme, Montpellier a constaté par des numérations globulaires en série une hémopoïèse très importante, qui va de 500.000 à 1 million d'hématies après une série de 4-6 injections de 0,10 à 0,15 centigrammes.

Ces faits prouvent une fois de plus que le résultat thérapeutique que l'on obtient avec des composés de ce genre est bien plus en proportion de la nature du produit que des quantités de ses composants. Il est possible que l'argent, l'antimoine et le brome exercent une action sur le trophisme général, mais il est plus certain — car c'est là un fait ancien d'expérience — que l'arsenic a cette action trophique au plus haut point; or, comme le 102 est de tous les arsenobenzols celui qui contient le moins de ce métalloïde, il faut bien admettre que l'équivalence de son action trophique lui provient de sa nature physicochimique beaucoup plus que son taux d'arsenic lui-même.

B. — RÉACTIONS CONSÉCUTIVES AUX INJECTIONS

RÉACTIONS LOCALES

Le luargol exactement sodé (disodo-luargol) ne provoque aucune réaction au niveau de la veine injectée : le vaisseau

(1) Montpellier, *Paris médical*, 9 juin 1917.

reste souple, indolore, perméable et peut être utilisé pour les injections ultérieures.

Il est au contraire — à l'instar du 606 et du 914 — extrêmement irritant pour les tissus sous-cutanés et périveineux au sein desquels il provoque, lorsqu'une erreur de technique l'y a fait pénétrer, une vive sensation de brûlure et du gonflement œdémateux. Cette irritation chimique s'explique — comme les troubles généraux — par la précipitation du produit au contact des humeurs de l'organisme. Le précipité, dans ces tissus non adaptés à cette fonction et immobiles, met un temps plus ou moins long à se redissoudre et donne comme reliquat un petit noyau scléreux qui persiste indéfiniment.

Une technique très précise est donc nécessaire pour éviter ce petit inconvénient qui n'a pas d'autre gravité.

Lorsque, au début de son emploi, le 102 était fourni sous forme de base acide que le médecin sodifiait extemporanément au moment de l'injection, on a constaté un grand nombre d'indurations veineuses : elles avaient pour origine une hyperalcalinisation du produit causée par des solutions mal titrées de soude ou par des compte-gouttes inexacts. Ces indurations ne se voient plus jamais avec le sel disodique.

RÉACTIONS GÉNÉRALES

Réaction normale.

Après la première injection, on note une réaction minime qui se résume dans une légère fatigue, un peu de lourdeur de tête et une élévation de quelques dixièmes de degré dans la température. Ces phénomènes apparaissent de 4 à 8 heures après l'injection.

On admet généralement, en arsénothérapie, que la réaction de première injection est d'ordre spécifique et fonction de la destruction massive des tréponèmes au premier contact médicamenteux. Cette interprétation paraît être un peu trop exclusive et unilatérale ; à côté de l'influence parasiticide des médicaments du groupe de l'arsenobenzol, il y a lieu de faire état, pour la comprendre, des propriétés physico-chimiques développées par eux dans le milieu intérieur. S'il y a premier

contact du médicament spécifique avec les parasites, il y a aussi premier contact du médicament avec l'organisme. M. Danysz a attiré l'attention sur ces faits et a montré que le luargol, comme le 606, subit dans le sang toute une série de modifications biochimiques (qui seraient calquées sur celles que l'on observe dans l'anaphylaxie d'origine albuminoïde) et qui expliquent la production de la réaction de première injection comme aussi les réactions anormales ultérieures. On peut résumer ce cycle de transformations de la manière suivante : au contact du sang et des tissus, la base se précipite sous une forme colloïdale, puis le précipité se redissout pour pouvoir retrouver la forme cristalloïde nécessaire à son élimination. Il y a donc dans le milieu intérieur des produits précipitants et des produits solvants. De la proportion réciproque de ces produits dépendent la production et l'intensité de la réaction. Une première injection surprend l'organisme, non préparé à accomplir cette digestion imprévue, et provoque une réaction, mais aussi elle déclenche le mécanisme de production des produits solvants qui serviront à amortir le choc dans les injections suivantes. La réaction de première injection est d'autre part proportionnelle à la quantité de médicament injecté, tandis que, même pour une dose extrêmement faible, l'entrée en jeu du mécanisme des solvants se produit, ce qui permet d'établir, comme nous le verrons, une vaccination chimique antiréactionnelle remarquablement efficace. Lorsque cette production de solvants fait défaut, pour une raison quelconque, la réaction de première injection se reproduit aux injections suivantes et augmente d'intensité avec les doses. La localisation anatomique du précipité non redissous détermine la forme clinique des réactions. La durée des réactions est fonction directe du temps que le précipité met à se redissoudre. La gravité des réactions est en proportion de sa localisation, de sa durée et de son volume.

Ces notions jettent un jour tout nouveau sur la pathogénie des réactions de l'organisme à la suite des injections d'arsenobenzol et de 102. Elles montrent pourquoi la réaction de première injection est en quelque sorte obligatoire et elles expliquent comment les petites doses de 102 provoquent une réaction moindre que celles de 606. Elles permettent enfin de

comprendre la raison de ce fait que, normalement, les injections ultérieures de la série sont de mieux en mieux supportées et elles dévoilent à quelles causes sont dues les réactions anormales dans ces circonstances.

Réactions anormales.

Elles sont si rares avec le 102 que nous n'avons jamais eu l'occasion d'en observer de sérieuses, malgré le nombre élevé d'injections que nous avons pratiquées; et sur le total d'environ 50.000 injections de 102 qui ont été appliquées en thérapeutique humaine depuis deux ans, on n'en a signalé jusqu'ici que trois cas vraiment graves.

On constate quelquefois des poussées érythémateuses (érythème simple ou ortié), ou des réactions d'Herxheimer, qui sont communes à toutes les médications spécifiques de la tréponémie; dans quelques cas aussi, des crises nitritoïdes frustes, surtout quand on atteint les doses élevées (0,20 et plus). Tous ces phénomènes réactionnels sont sans gravité et ne rappellent que de loin les crises nitritoïdes du salvarsan et du néo-salvarsan qui ont servi de type à la description de Milian.

Seuls jusqu'ici, MM. Hudelo et Montlaur (1) ont publié trois cas de réaction grave.

Voici le texte intégral de leurs observations :

Obs. I. — D..., artiste, vingt et un ans, vient consulter au dispensaire pour un accident primitif vulvaire, siégeant à la face interne de la petite lèvre droite, accompagné de roséole généralisée, de syphilides ulcéreuses des piliers antérieurs et de céphalée violente. Pas d'albumine dans les urines.

La réaction de Wassermann est franchement positive W = II°.

Les 29 mars et 1er avril, la malade reçoit 0 gr. 10 de 102.

Le 5 avril, troisième injection de 0 gr. 15. A la fin de l'injection, malaise, état nauséeux, congestion de la face, céphalée intense; en un mot, crise nitritoïde.

Le lendemain 6 avril, mêmes symptômes; de plus, on constate un érythème des membres supérieurs, de l'œdème de la face, surtout palpébral. Le 7 avril, la malade est reçue à l'hôpital. Elle présente des vomissements, de la diarrhée, une pluie de râles fins sur toute la hauteur des poumons, de la congestion hépatique; le foie est gros, douloureux, surtout dans la région

(1) Hudelo et Montlaur, *Soc. méd. des Hôp.*, 21 juillet 1916.

de la vésicule; léger subictère des conjonctives et des téguments. Les urines sont foncées, le pouls petit. Ventouses, diète hydrique, caféine, cure de Guelpa.

Le 11 avril, la malade a uriné abondamment, le foie est décongestionné, l'œdème de la face a disparu, mais la teinte ictérique est plus prononcée, les urines sont toujours très foncées. L'érythème s'est généralisé et l'éruption est légèrement purpurique. Le pouls est bien frappé. Le 20 avril, l'érythème diminue, sans desquamation. L'ictère augmente d'intensité, les urines sont toujours foncées, mais abondantes. Le foie est indolore. Les matières fécales sont décolorées. Bon état général. Régime lacté. Lavements froids.

Le 27 avril, desquamation furfuracée généralisée.

Le 6 mai, amélioration très notable, la malade sort sur sa demande.

Nous avons revu la malade complètement guérie de son ictère à partir du 15 juin environ; cette jaunisse a donc duré plus de deux mois.

Obs. II. — N... (Marie-Louise), trente ans, domestique (?) est reçue à l'hôpital Broca le 26 avril 1916 pour de l'ecthyma spécifique de la cuisse et de la fesse droites, des syphilides tuberculeuses de l'abdomen; deux éléments de roséole circinée à la partie supérieure du thorax à gauche. Elle présente de la leucoplasie jugale bilatérale et une laryngite ancienne soignée, il y a six ans, par six piqûres d'huile grise. Elle n'a fait depuis cette époque aucun traitement.

La réaction de Wassermann est franchement positive (H^1). Pas d'albumine dans les urines.

Cette malade reçoit, du 2 au 13 mai, 3 injections de 0,10, 0,15 et 0,20 sans présenter d'autres réactions qu'une légère diarrhée sans élévation thermique.

Le 13 mai, jour de la 4e injection (0 gr. 25), et cinq heures après avoir reçu la piqûre, la malade accuse une ascension thermique (38°6) et a une selle liquide.

Dans les trois jours qui suivent, la température oscille entre 38° et 38°4. Les quatrième, cinquième, sixième et septième jours, la température semble revenir à la normale, quand, le soir du septième jour (20 mai), la malade est prise de vomissements; la température s'élève brusquement à 40°5 et s'accompagne de céphalée intense et d'une diarrhée profuse non hémorragique. Pas d'albumine dans les urines. L'abdomen est douloureux à la palpation, le pouls petit, les bruits du cœur sont sourds. La patiente est très abattue.

Le 21 mai, la diarrhée est fétide, abondante, l'état général est mauvais, on note une légère épistaxis.

Le 23 mai, alors que la température se maintient à 38°5-39°, nouvelle ascension thermique (40°3), quoique la diarrhée soit moins abondante.

Le lendemain 24, chute brusque de la température, qui se maintient ensuite entre 37° et 38°. Les selles se régularisent, la malade sort le 1er juin guérie.

Obs. III. — Lucie, trente-deux ans, ménagère, vient consulter au dispensaire A. Fournier pour une roséole légèrement papuleuse datant de cinq semaines, s'accompagnant de céphalée, de bourdonnements d'oreilles, de laryngite secondaire et de pléiades cervicales postérieures. Pas d'albumine dans les urines.

Réaction de Wassermann franchement positive = H^0.

Cette malade reçoit du 25 mars au 1er avril 3 injections de 0,05, 0,05, 0,10, du 4 au 25 avril; la patiente reçoit et supporte parfaitement cinq injections (0,10, 0,15, 0,15, 0,20, 0,20).

Le 29 avril, la malade accuse une extrême lassitude et de la fièvre. On suspend le traitement.

Le 2 mai, nouvel examen de notre malade, qui demande son admission à l'hôpital. On note ce jour-là une plaie non suppurante de la main droite avec de la lymphangite remontant jusqu'au coude; la malade se plaint toujours de la même asthénie.

Le 3 mai au matin, la température est de 40°5. Le même jour, vers 3 heures, la malade est prise d'une diarrhée liquide abondante, fétide. Température, 40°7. L'interne de garde appelé pense à la possibilité d'une dothiénentérie et passe la malade en médecine générale, dans le service de notre collègue Dufour.

Avant son départ de Broca, le pouls était à 148 et les urines renfermaient de l'albumine.

Le 4 mai au matin, M. Dufour voit la malade et fait pratiquer un séro-diagnostic qui est négatif.

La malade succombe le 6 mai dans la soirée après une série incessante de selles diarrhéiques et sanglantes. M. Dufour avait conclu à une « colite hémorragique d'origine toxique ».

A l'autopsie le foie est très gros et pèse 2 kil. 500, rose à la coupe et gras. Le cœur ne présente pas de lésions d'endocardite; il est rosé, comme d'ailleurs les autres organes. Les reins sont gros, d'un rose pâle. La rate, volumineuse, pèse 250 grammes. L'intestin grêle ne présente aucune altération; le gros intestin, cæcum excepté, présente une muqueuse œdématiée, épaissie, recouverte de suffusions sanguines et ayant l'aspect d'une tartine de raisiné.

L'examen toxicologique des viscères ne nous a pas permis de déceler la présence d'arsenic. La possibilité qui nous avait été signalée d'une intoxication volontaire, nous a fait rechercher le mercure; même résultat négatif que pour l'arsenic.

Le mauvais état de conservation des organes ne nous a pas permis d'examiner microscopiquement ni le côlon ni l'intestin grêle, ni le foie de cette malade. Seul l'examen histologique du rein a pu être pratiqué par M. Halpérine.

Il montre au niveau des corpuscules de Malpighi une distension marquée de la capsule de Bowman et des lésions très marquées des glomérules, dont les uns sont remplacés par une masse anhiste plus ou moins rétractée, dont les autres ont subi totalement la transformation fibreuse. Au niveau des tubuli, qui sont largement dilatés, on ne note que peu d'altérations de l'épithélium, mais la lumière est remplie de nombreuses granulations protéiques. De plus, on note çà et là un certain nombre de travées interstitielles épaisses comprimant les tubuli un peu affaissés.

Dans leurs commentaires, MM. Hudelo et Montlaur observent que ces réactions leur paraissent être d'un type tout à fait différent des réactions graves du 606 et ils supposent que la présence de l'antimoine explique la prédominance des réactions constatées sur le tube digestif. Enfin, poussant plus loin leurs recherches, ils observent, dans trois autres cas, que le traitement par le 102 a provoqué une diminution progressive

de l'urée urinaire et une augmentation parallèle de l'urée sanguine et ils concluent que les malades sont mis par ce médicament « en lisière d'intoxication ».

L'expérience, cependant très étendue, que nous avons du luargol ne nous avait pas précisément conduit à cette conclusion. Nous avons bien constaté, dans quelques cas exceptionnels, l'apparition d'albumine dans les urines de certains malades en cours de traitement : la fréquence de cette albuminurie ne nous a pas paru plus grande avec le luargol qu'avec le 606, le 914 ou tout autre médication active (mercure, chloroforme, etc...); elle est fonction du coefficient individuel de résistance aux traitements, comme du reste aux maladies. Mais, par contre, nous n'avons jamais été à même d'observer, chez des malades en traitement, le moindre signe de petite ou de grande urémie, et les auteurs qui, comme Emery, emploient le luargol d'une manière intensive et extrêmement prolongée, n'ont signalé, eux non plus, aucun fait de ce genre. Il ne faut peut-être pas se hâter de conclure de l'azotémie à l'urémie, dans ces circonstances du moins, pas plus qu'on ne saurait prétendre que la quinine, par exemple, est urémigène, sous prétexte que, comme l'a montré il y a déjà longtemps Gorup Besanez, ce médicament provoque une augmentation marquée du taux de l'urée dans le sang. Il s'agit de modifications passagères dans le métabolisme des principes azotés sous l'influence d'un élément hétérogène, le médicament; de même qu'il se produit une azotémie passagère à la suite d'un repas trop chargé en matières azotées (viandes, etc...). Il ne peut y avoir urémie, c'est-à-dire intoxication, que si le filtre rénal présente un degré suffisant *et permanent* d'imperméabilité : on n'a pas cité, jusqu'ici, un seul cas dans lequel des phénomènes urémiques aient été observés chez des malades soumis au traitement par le luargol et dont les reins étaient antérieurement sains. On doit donc admettre que l'azotémie signalée par MM. Hudelo et Montlaur constitue une notion intéressante en elle-même, mais qui ne justifie peut-être pas les craintes qu'elle a inspirées à ces deux auteurs.

D'autre part, l'action irritante élective de l'antimoine sur le tube digestif paraît bien difficilement invoquable, étant donné que le 102 ne comprend que 1 gr. 95 p. 100 d'antimoine, soit

0 gr. 00195 par 0,10 centigrammes, environ 0 gr. 02 par gramme. Et, de fait, le commun des malades, dans le traitement par le luargol, n'accuse aucune action particulière sur les voies digestives.

En réalité, les trois cas rapportés par MM. Hudelo et Montlaur n'ont rien, dans leur forme clinique, de particulier au 102 ; ils ont tous les caractères et toute la physionomie de ces troubles tardifs bien connus maintenant en arsénothérapie depuis les descriptions de Milian, d'Emery, de Rouvière, de Desjardins (de Bruxelles), etc..., qui constituent la forme gastro-intestinale de réaction. En voici le syndrome résumé : quelques jours après une injection de salvarsan, il se produit d'abord une poussée fébrile avec ou sans frissons, puis la fièvre s'installe et les signes gastro-intestinaux apparaissent : langue sale, selles liquides et fétides, parfois sanguinolentes, nausées et quelquefois vomissements, oligurie; augmentation de volume du foie, douleur dans l'hypocondre droit. Pouls accéléré, souvent arythmique. La crise dure quelques jours, puis tout rentre dans l'ordre. On voit quelquefois apparaître un peu plus tard de l'ictère.

Au degré près, les phénomènes décrits par MM. Hudelo et Montlaur sont calqués sur ceux-ci, mais il faut reconnaître que les cas qu'ils rapportent ont été d'une particulière gravité dont la cause, d'ailleurs, n'est peut-être pas introuvable.

Dans la première observation, il s'agit d'une éthylique avérée dont on est en droit de suspecter l'état du foie, et la troisième observation concerne une insuffisance rénale : les examens histologiques de M. Halpérine, et surtout l'interprétation que M. le professeur Letulle a donnée des préparations soumises à son examen prouvent que cette malade présentait de la néphrite scléreuse ancienne portant à la fois sur les glomérules et sur le tissu interstitiel. Dans ces conditions, on conçoit que la réaction médicamenteuse de ces deux malades ait pris des proportions insolites et ait pu chez l'une d'elles se terminer par la mort. La seule conclusion que l'on puisse logiquement tirer de ces deux faits, c'est que le traitement par le composé arséno-argento-antimonique exige, pour son application intégrale au moins, un fonctionnement normal du foie et des reins : c'est là un principe classique depuis longtemps en arsénothérapie.

L'observation II concerne un cas simple de réaction gastro-intestinale qui s'est terminé par une rapide guérison, comme c'est la règle, lorsqu'il n'existe pas d'insuffisance viscérale et que les émonctoires fonctionnent normalement.

Depuis les travaux de Frankel, de Navassart, d'Heiden, de Bourget, etc..., on sait que l'intestin est la grande voie d'élimination de l'arsenobenzol (606). Le 102 s'élimine, lui aussi, principalement par l'intestin (Danysz). L'affinité de ces composés pour cet émonctoire explique la production d'une réaction de type digestif, lorsque le produit destiné à être éliminé envahit la muqueuse gastro-intestinale, alors qu'il est encore anormalement sous la forme d'un précipité colloïdal qui obstrue les capillaires et provoque une congestion plus ou moins marquée des tuniques de l'intestin. Ces troubles persistent aussi longtemps que le précipité n'est pas redissous et ce fait règle toute l'échelle de gravité des réactions.

En somme, les trois cas de réaction grave rapportés par MM. Hudelo et Montlaur sont du type connu des réactions gastro-intestinales du salvarsan et du néo-salvarsan, ils ne semblent pas constituer une particularité du luargol et ils rentrent dans le cadre pathogénique général des troubles consécutifs aux injections de produits du groupe de l'arsenobenzol.

Il y a lieu d'ajouter que l'on possède maintenant un moyen de prévenir l'apparition des réactions thérapeutiques avec la vaccination chimique dont nous parlerons pour terminer ce chapitre.

C. — LA VACCINATION CHIMIQUE ANTIRÉACTIONNELLE

M. Danysz a constaté chez les animaux que l'injection préalable d'une petite dose de luargol prévenait l'apparition de la réaction qu'on provoque chez eux avec certaines doses élevées.

Nous avons vérifié le fait chez l'homme (1), dans trois cas. Chez un intolérant de l'arsenic (914); chez un malade qui, arrivé à la dose de 0,20 de luargol, avait fait une légère crise

(1) Dalimier, *Comptes rendus*, t. 164, 836, 21 mai 1917.

nitritoïde, et chez un tabétique cachectique qui aurait été incapable de supporter sans cela les doses de 0,05 centigrammes que nous leur injectons couramment maintenant.

La vaccination chimique consiste à introduire dans la circulation une dose de luargol inférieure à 0,03 centigrammes : la dose vaccinante est de 0,005 milligrammes à 0,02 centigrammes.

La vaccination est utilement employée en cours de traitement, lorsqu'à la suite d'une injection il s'est produit une réaction anormale ; elle permet alors de poursuivre la série en supprimant l'intolérance ; elle peut être mise aussi à profit avant le traitement chez les malades présentant des signes de probabilité de réaction (intolérants reconnus de l'arsenic, contre-indiqués de la chimiothérapie par insuffisance rénale, cardiaque ou hépatique, phosphaturiques, etc...). Dans ces circonstances (et on la répète autant de fois qu'il est nécessaire) on peut arriver, grâce à elle, à faire supporter le traitement partiel ou complet à des individus chez lesquels on aurait renoncé par avance à cette thérapeutique.

L'immunisation chimique contre les réactions peut être pratiquée d'ailleurs dans tous les cas, par une simple modification de la technique des injections, car elle se produit très rapidement ; au lieu de l'appliquer isolément la veille de l'injection thérapeutique, on peut la produire extemporanément en faisant passer dans la circulation, à chaque injection, la dose vaccinante sous forme des premières gouttes de la solution préparée. Il suffit d'attendre une minute ou deux, après lesquelles, l'immunité étant acquise, on peut injecter le reste du contenu de la seringue avec la lenteur convenable. Cette technique d'injection en deux temps donne les meilleurs résultats et il est infiniment désirable de la voir adopter pour tous les cas indistinctement.

Ce procédé si simple de vaccination chimique contre les réactions thérapeutiques rappelle la technique des injections antianaphylactiques subintrantes de Besredka pour les sérums animaux.

Il semble même, si l'on en croit les observations faites chez les animaux, que la vaccination chimique pourrait être utilement mise à profit dans le traitement des réactions déclarées,

tout comme l'adrénaline, adoptée depuis Milian dans ce but. Toutefois nous n'avons pas eu, jusqu'ici, faute de réactions, l'occasion de vérifier le fait chez l'homme.

Quoi qu'il en soit, il ressort de ces faits que l'explication pathogénique des réactions que nous avons résumée plus haut, d'après M. Danysz, reçoit de cette méthode vaccinale chimique une confirmation intéressante et que, désormais, grâce aux petites doses thérapeutiques du luargol qui normalement évitent toute réaction, grâce à la vaccination qui pare aux cas exceptionnels d'intolérance, la chimiothérapie de la syphilis et des parasitoses se présente avec une sécurité jusque-là inconnue et un champ d'application agrandi.

CONCLUSIONS

1° L'action du luargol sur les tréponèmes, ainsi que sur les lésions causées par ces parasites, est plus élective, plus spécifique que celle de l'arsenobenzol. Au point de vue de la réaction de fixation, on obtient dans les cas de syphilis primaire et secondaire des résultats équivalents avec 1 gr. 50 à 2 grammes de luargol et avec 2 à 3 grammes d'arsenobenzol; de sorte que, en employant les deux produits à doses égales (ce qui est très possible), on peut obtenir une proportion de guérison plus grande avec le premier.

2° L'étude comparée du taux de l'arsenic dans ces différents produits prouve que l'augmentation du pouvoir parasiticide du luargol provient de l'addition du bromure d'argent et de l'antimoine.

3° Le luargol se prête à la réalisation d'une vaccination chimique antiréactionnelle très active. L'immunisation chimique de l'organisme, normalement inutile, a l'avantage de parer aux intolérances exceptionnelles qui peuvent se manifester et de reculer les limites des contre-indications classiques de la chimiothérapie.

CONTRIBUTION

A L'ÉTIOLOGIE DES DIARRHÉES DES NOURRISSONS

par Mlle TSIKLINSKY,

de l'Institut bactériologique de l'Université de Moscou.

On peut dire qu'on est à peu près d'accord, à l'heure présente, sur les causes principales des gastro-entérites des enfants, au cours de la première année de leur existence.

Ces maladies ont leur cause : 1° dans la qualité et la quantité non appropriées de la nourriture donnée à l'enfant, quand il est au sein ou surtout quand il est nourri artificiellement; 2° dans une infection de l'intestin.

Dans cet article, je ne m'arrêterai qu'aux maladies, dues à cette dernière cause, aux gastro-entérites infectieuses des nourrissons, dont l'étiologie attire de plus en plus, dans ces derniers temps, l'attention des pédiatres-cliniciens, ainsi que des bactériologistes.

Il fut un temps où on niait le rôle étiologique de l'infection dans les gastro-entérites des nourrissons. On ne voulait voir la cause de ces maladies que dans les facteurs purement extérieurs, par exemple, l'influence de la forte chaleur; actuellement encore il existe des auteurs qui attribuent le choléra infantile et, en général, les cas graves des gastro-entérites à l'insolation (Rietchel, Finkelstein, Meinart et d'autres); mais ces opinions sont loin d'être la majorité et, à présent, non seulement les bactériologistes, mais aussi les pédiatres-cliniciens admettent qu'il y a un groupe de diarrhées infantiles ayant pour cause l'infection de l'intestin.

Le revirement de doctrine qui s'est produit dans cette question est étroitement lié aux observations bactériologiques et cliniques faites par différents auteurs pendant les quinze ou vingt dernières années sur les diarrhées infantiles estivales.

Comme on le sait, la flore intestinale normale de l'enfant au sein pendant la première année de sa vie est remarquable par sa grande uniformité. Le microbe qui prédomine de beaucoup dans la flore du canal intestinal de l'enfant à cette époque est le *Bac. bifidus* Tissier, auquel viennent se joindre le *Bac. coli communis*, le *Bac. lactis aerogenes*, l'*Enterococcus* et les *Bac. acidophilus*. En outre, il a été démontré que cette flore ne participe pas activement à la digestion, mais n'apparaît, surtout le *Bac. bifidus*, que comme un antagoniste actif des bactéries de putréfaction. Cette flore protège par cela même l'intestin contre les maladies infectieuses, provoquées par l'activité de ces bactéries. Le passage de la nutrition au sein à l'alimentation mixte s'accompagne du peuplement de l'intestin par divers microbes : le *Bac. bifidus* cède la place aux autres microbes, et ainsi disparaît la protection normale, mentionnée plus haut contre l'invasion des microbes étrangers. L'idée que la pénétration dans le canal intestinal de l'enfant de microbes agissant défavorablement peut provoquer une maladie spécifique de l'intestin a été avancée pour la première fois par Escherich dans sa monographie, parue en 1886. D'après Escherich, ce sont, d'un côté, les Streptocoques, qui peuvent être les agents pathogènes des infections intestinales de l'enfant et, d'un autre, tout un groupe de bacilles se colorant au Gram (Blaubacillose).

D'autres auteurs attribuaient l'étiologie de ces maladies au *Bac. coli communis*, devenu virulent, ou bien au Bac. pyocyanique, *Bac. perfringens*, etc. L'étude de cette question ne faisait que de lents progrès, et le rôle des microbes dans l'étiologie des infections intestinales de l'enfant restait toujours obscur. Les arguments en faveur de ce rôle des microbes n'avaient pas de base suffisamment solide jusqu'à l'époque où, sur tout ce problème intéressant, fut projetée une nouvelle lumière par les travaux personnels de M. Metchnikoff et par les travaux sortis dernièrement de son laboratoire. Les recherches de M. Metchnikoff sur cette question sont en rapport direct avec ses travaux sur le rôle physiologique des microbes du canal intestinal de l'homme et des animaux elles firent naître chez lui, comme on sait, la conviction; que les microbes non seulement ne sont pas indispensables à la vie de l'orga-

nisme, mais que, tout au contraire, ils apparaissent quelquefois comme très nuisibles. Il est tout naturel que la question spéciale du rôle des microbes dans les diarrhées infantiles soit entrée d'elle-même dans le programme général des recherches concernant le problème du rôle des microbes intestinaux chez l'homme et chez les animaux. M. Metchnikoff, à l'aide de toute une série de recherches et d'observations sur les épidémies de diarrhée infantile, a démontré péremptoirement non seulement leur origine microbienne, mais a établi en outre ce fait important, que c'est au *Proteus vulgaris* qu'appartient le rôle principal dans l'étiologie des diarrhées des nourrissons et surtout dans les cas de choléra infantile. M. Metchnikoff a isolé ce dernier microbe de 93 p. 100 des 228 cas examinés; de plus il a pu provoquer le tableau typique des diarrhées infantiles chez les chimpanzés et les jeunes lapins à la nourriture desquels on avait mélangé des excréments des enfants malades.

M. Metchnikoff, désirant savoir dans quelle mesure les gastro-entérites infantiles ont la même cause dans d'autres villes que Paris, avait chargé M. Alexandre Bertrand de faire des recherches à Londres pendant l'épidémie estivale de 1913. Or, le *Bac. proteus vulgaris* a été isolé dans tous les cas de diarrhée observés, qui furent au nombre de 55, tandis qu'il ne fut trouvé que 2 fois sur 24 cas normaux examinés. Au mois de mai 1913, MM. Gildemeister et Baerthlein rendaient compte des résultats de leurs recherches bactériologiques pendant l'épidémie de diarrhée des nourrissons à Berlin : le *Proteus vulgaris* fut isolé dans 31 p. 100 de tous les cas examinés, alors que sa présence ne fut décelée que 9 fois chez les enfants sains. Il résulte donc de ces dernières recherches, que le rôle important de ce microbe dans les entérites infectieuses est confirmé pour les épidémies qui s'étaient produites dans des endroits différents. Se basant sur ses toutes dernières expériences, M. Metchnikoff incline à conclure que c'est fréquemment en symbiose avec d'autres microbes que le *Proteus vulgaris* provoque l'infection, soit avec le *Bac. perfringens*, soit avec les Sarcines, soit même avec d'autres microbes. On peut trouver une confirmation intéressante de cette manière de voir dans un article d'Albert

Berthelot. Cet auteur a réussi à provoquer un cas grave de gastro-entérite chez les rats nourris au lait, en leur faisant ingérer un mélange de cultures de *Proteus vulgaris* et de *Bac. aminophilus*, tandis que les cultures pures de ces microbes, ingérées séparément, ne provoquèrent pas cette maladie.

*
* *

Recherches personnelles.

Le but immédiat de mes recherches était d'étudier avec quelle fréquence le *Proteus vulgaris*, si répandu dans les cas de choléra infantile et en général dans les épidémies de gastro-entérite à Paris et à Londres, se rencontre dans les mêmes maladies à Moscou.

J'ai examiné 26 cas de gastro-entérite pendant l'épidémie de Moscou de 1910, 32 cas en juillet 1912 et 12 cas au printemps de l'année 1913. Il faut ajouter encore 8 cas de gastro-entérite, qui ont été soumis à mon examen par M. Metchnikoff au cours de mon séjour à Paris pendant l'été 1911, soit au total 78 cas. Tous les cas étudiés provenaient d'enfants nourris au biberon ou ayant une alimentation mixte (sein et biberon). Il n'y avait que 2 cas d'enfants malades nourris exclusivement au sein. Tous les cas (documents et matières) m'ont été fournis par les Drs Langovoï, Luntz et Jakovlev. J'ai étudié en outre la flore intestinale de 40 enfants *bien portants*, nourris au sein ou au régime mixte. Grâce à l'obligeance du Dr Saïtzev j'ai pu avoir les matières à examiner durant les diverses saisons. Ces matières provenaient de la maison d'accouchement de Lépechine à Moscou. J'adresse à cette occasion mes sincères remerciements à tous mes collègues susnommés.

Voici comment on a procédé chaque fois pour obtenir les excréments : on a introduit un petit tube en verre stérilisé, large de 1/2 centimètre, dans le rectum ; conséquemment ce tube se remplissait rapidement d'une quantité considérable de fèces, après quoi, dans le but de bien conserver et de pouvoir transporter dans les meilleures conditions la matière prélevée, on plaçait le petit tube dans un tube à essai stérilisé.

Des recherches ont été faites et sur les matières fécales, prises dans les cas de choléra infantile et, en général, dans les cas de gastro-entérite graves ou bénins. Les excréments obtenus étaient en partie de couleur jaune, presque de la couleur normale, en partie blanchâtres ou gris-vert, quelquefois vert éclatant : les excréments contenaient parfois une grande quantité de liquide d'aspect aqueux surnageant au-dessus d'une couche solide immédiatement après l'extraction du tube du rectum. On a observé quelquefois dans la partie liquide des flocons blancs ; dans certains cas, on a constaté la présence d'un peu de mucus, de traces de sang ou de pus.

*
* *

Méthode générale de recherches.

Immédiatement après avoir reçu les matières fécales, on procédait à leur examen bactériologique ou bactérioscopique. On s'est toujours servi de la méthode de Gram avec la fuchsine complémentaire pour la coloration des préparations étalées. Quant à l'examen bactériologique, bien que mon but immédiat fût d'isoler le *Proteus vulgaris*, j'ai isolé néanmoins d'autres bactéries, que je rencontrais dans les excréments examinés. Pour chaque cas étudié on procédait à l'isolement des bactéries aérobies et anaérobies. Pour ces derniers on se servait habituellement de la méthode de Veillon (dilution graduelle de la semence dans des tubes avec de la gélose sucrée profonde). On procédait aussi spécialement à l'isolement du *Bac. perfringens*, à cause de sa virulence et de sa toxicité bien connues, ainsi qu'il suit : ensemencement d'une parcelle de déjections dans un tube de lait, ébullition pendant une minute, puis chasse de l'air et son remplacement par l'hydrogène, après quoi on portait le tube à 37°. Dans les cas de présence de *Bac. perfringens* on le découvrait déjà au bout de vingt-quatre heures, grâce à la coagulation caractéristique du lait. Quant aux microbes aérobies, on les étudiait en ensemençant les excréments dans divers milieux nutritifs : sur des boîtes de Petri et tubes de gélose inclinée, dans la gélatine par piqûres, dans du lait, sur le milieu de Drigalsky-Conradi et

dans quelques autres milieux spéciaux. Dans le but d'isoler les bactéries sporulées, on chauffait préalablement la semence pendant une heure à 80° pour tuer les formes végétatives et on pratiquait ensuite l'ensemencement. Pour l'isolement du *Proteus vulgaris*, on se servait chaque fois simultanément de deux méthodes : 1° on ensemençait une parcelle de fèces dans la gélatine par piqûre et un à deux jours après on en coulait des plaques avec la partie liquéfiée de la gélatine. Dans les cas où le *Proteus vulgaris* existe, on ne manque pas de déceler ses colonies caractéristiques; 2° on ensemençait une parcelle de matière fécale dans la profondeur du tube de gélose inclinée, dans de l'eau de condensation ; le lendemain, on remarque le développement abondant du *Proteus vulgaris* couvrant toute la surface de la gélose jusqu'au sommet d'un enduit bleuâtre. Bien que la première méthode ne soit pas si rapide que la seconde, elle est plus sûre et permet d'isoler le *Proteus vulgaris* dans des cas où la seconde méthode est impuissante à le révéler; ce microbe, en effet, refuse parfois de s'étaler le long de toute la surface du milieu nutritif sous la forme de cet enduit caractéristique. Dans les cas où l'on cherche le *Proteus vulgaris* sur les plaques de Petri, ensemencées directement avec des fèces, on le voit parfois apparaître aussi sous les aspects très caractéristiques suivants : il s'étale sur une étendue plus ou moins grande, en forme de larges zones bleuâtres, ou bien il apparaît comme un nuage bleu autour des colonies d'autres microbes, poussés aussi sur la même plaque. Dans tous ces cas, il est très aisé de déceler le *Proteus* et de l'isoler en culture pure.

*
* *

Résultats des recherches microscopiques.

Les résultats microscopiques des recherches sur les excréments dans tous les cas de diarrhée, étudiés par moi, montrent que la flore intestinale d'un enfant malade diffère sensiblement de la normale et contient des espèces bactériennes, qu'on ne trouve pas dans l'intestin d'un enfant bien portant. De plus, en comparant les tableaux microscopiques provenant

de cas observés par moi, à Moscou et à Paris, j'ai pu contater leur grande analogie et me persuader que la différence de pays, de nation, de climat ne s'est manifestée ni à l'examen microscopique, ni à l'examen bactériologique des fèces.

Je signalerai ici (pl. VIII) quelques-uns des aspects microscopiques que j'ai rencontrés le plus souvent en étudiant les frottis colorés des fèces d'enfants malades. En même temps, pour permettre la comparaison, je reproduirai les aspects microscopiques des excréments d'un enfant bien portant.

Fig. 1. — Flore intestinale normale de l'enfant au sein. Présence presque exclusive de *Bac. bifidus*.

Fig. 2. — Augmentation marquée des bactéries ne se colorant pas au Gram, mais le *Bac. bifidus* prédomine encore. C'est probablement le stade initial de la maladie.

Fig. 3. — Le *Bac. bifidus* est à peine visible, le nombre des coccobacilles, colorés à la fuchsine, a beaucoup augmenté; ces coccobacilles sont de grandeur différente : on constate des amas, renfermant des individus assez volumineux et d'autres amas en renfermant de très petits.

Fig. 4. — La préparation présente un tableau bigarré; celui-ci contient un grand nombre de bactéries très diverses, qu'on ne voit pas dans l'intestin à l'état normal : des bâtonnets de grandeur et de forme différente, prenant ou non le Gram, bâtonnets avec une spore ovale à leur extrémité et des cocci. Le *Bac. bifidus* ne se rencontre presque pas dans la préparation; on n'en voit que des exemplaires isolés, qui offrent des formes d'involution.

Fig. 5. — Le *Bac. bifidus* est présent, mais en diminution très prononcée; une quantité considérable de cocci pyogènes, colorés au Gram, un certain nombre de leucocytes, par endroit des coccobacilles, colorés par la fuchsine, de gros diplococcus colorés au Gram, très caractéristiques des excréments dans les diarrhées infantiles.

Fig. 6. — Le *Bac. bifidus* est absent; on ne le remarque pas. Le nombre de coccobacilles colorés en rose a beaucoup augmenté. Ces derniers sont disposés en agglomération irrégulière, où tous les individus sont étroitement serrés. Ces coccobacilles sont un peu plus gros que ceux que l'on rencontre habituellement dans les excréments des enfants; quelques individus ne sont colorés que sur les bords; on trouve, de plus, une petite quantité de cocci et des exemplaires isolés de bâtonnets prenant ou non le Gram. Il y a dans la préparation des espaces vides de bactéries.

Fig. 7. — Dans cette préparation on ne voit que des bactéries, colorées en bleu foncé au Gram (« Blaubacillose » d'après Escherich). Ce sont les bacilles, qui prédominent; ils sont aux bouts carrés ou arrondis, longs ou courts; un petit nombre de *cocci*; le *Bac. bifidus* est assez nombreux; on en rencontre des formes ramifiées aux extrémités; on ne rencontre que rarement les coccobacilles, colorés en rose.

Fig. 8. — Le *Bac. bifidus* est sensiblement diminué; on voit des bacilles, colorés au Gram et à la fuchsine, un certain nombre de cocci pyogènes, des levures ou plutôt de l'Oïdium.

* * *

Résultats obtenus dans l'isolement des cultures pures.

I. *Microbes ne se colorant pas par le Gram.* — D'accord avec les recherches de Metchnikoff, dont il est parlé ci-dessus, l'isolement des cultures pures des fèces des enfants malades nous permet de conclure que le *Proteus vulgaris* y est observé beaucoup plus fréquemment que les autres espèces microbiennes; il a été isolé dans 65 p. 100 des cas étudiés. Il a été très abondant dans certains cas, de sorte qu'on a pu très facilement l'isoler au bout de 24 heures en culture pure ou presque pure; dans d'autres cas sa présence n'était pas si manifeste, et il a fallu 48 heures et même quelques jours pour le déceler, mais dans tous les cas les cultures du *Proteus vulgaris* se distinguaient par une virulence et une toxicité extrêmes. Inoculé sous la peau du cobaye ou du lapin dans la quantité de 1/4-1/2 c.c. de culture en bouillon il les tue infailliblement au bout de 24-36 heures. L'autopsie révèle une hémorragie dans le tissu sous-cutané, un exsudat dans le péritoine et une pullulation abondante du *Proteus vulgaris* dans tous les organes. L'inoculation de la culture, tuée par un chauffage à 60° pendant deux heures, amenait également la mort rapide des animaux. En présence de ces résultats il a paru très intéressant d'examiner si le *Proteus vulgaris* se rencontre souvent dans l'intestin des enfants bien portants, et quel est alors le degré de sa virulence. Metchnikoff et d'autres auteurs ont constaté que le *Bac. proteus* peut se trouver dans un certain nombre de cas dans l'intestin normal des nourrissons. Sur 40 échantillons de fèces examinés par moi dans ce but, le *Proteus vulgaris* a été isolé 8 fois, soit 20 p. 100. Il s'agissait d'enfants de différents âges, de quelques jours à un an, nourris au sein ou au régime mixte. Il est remarquable que, dans tous ces cas, les cultures du *Bac. proteus vulgaris* étaient dépourvues de virulence et ne provoquèrent aucun phénomène morbide à la suite de l'injection sous la peau. Il est vrai que, sur 8 lapins qui servirent l'expérience, deux maigrirent; mais ils se rétablirent complètement au bout de quelques jours.

En regard des résultats que je viens de mentionner, il est peut-être intéressant de citer les expériences que j'ai faites avec le *Bac. proteus vulgaris*, isolé du canal intestinal des musaraignes. Ce microbe a été trouvé dans 80 p. 100 des cas examinés chez ces animaux. Inoculées sous la peau et dans le péritoine des cobayes et des lapins, les cultures de ce microbe, très typiques sous tous les autres rapports, étaient complètement dépourvues de virulence. On peut donc en conclure que, dans le canal intestinal de l'homme et des animaux, peuvent exister des races de *Proteus vulgaris*, dépourvues de virulence, affaiblies peut-être par des conditions de symbiose trouvées par elles dans un organisme donné.

Parmi les microbes ne prenant pas le Gram, après le *Bac. proteus vulgaris*, mais bien plus rarement, j'ai isolé quelques espèces du groupe coli-typhus, donnant des colonies bleues sur le milieu Drigalski-Conradi, et notamment 3 fois le bac. de Morgan (épidémie de 1911) et deux fois le bac. dysentérique de Flexner (épidémie de 1912). Le bac. pyocyanique n'a été trouvé que deux fois. Parmi les colonies rouges ayant poussé sur le milieu de Drigalski-Conradi, nous avons isolé quelques variétés du *Bac. coli communis*; l'une d'elles mérite d'attirer attention à cause de ses caractères morphologiques, notamment ceux-ci; ses colonies se distinguaient, examinées à la loupe, par une structure particulière : homogènes au centre et dans la plus grande partie de la colonie, elles devenaient striées sur les bords; cependant la partie striée ne s'étendait pas régulièrement autour de la colonie, mais apparaissait seulement par endroits, comme si la masse striée sortait du dessous de la colonie. Ce tableau donnait l'impression de deux espèces de microbes, dont les colonies, liées étroitement ensemble, avaient poussé sans se séparer, pendant qu'on ensemençait l'émulsion des fèces en dilutions successives sur les boîtes de Petri. L'examen microscopique de ces deux parties de colonies ne faisait, semblait-il, que confirmer cette supposition : en effet, le frottis de la partie homogène représentait des coccobacilles, qui ne se distinguaient en rien du colibacille ordinaire; la préparation faite avec la partie striée révélait, au contraire, de gros bâtonnets, parmi lesquels on observait parfois de longs filaments, amincis aux bords et considérablement plus épais dans leur partie cen-

trale; un grand nombre de ces bâtonnets étaient plus colorés dans leur partie centrale, tandis que les bouts restaient d'un rose pâle. Les tentatives faites pour séparer ces deux espèces restèrent d'abord sans succès, car on voyait apparaître toujours le même genre de colonies, où prédominaient le plus souvent les colonies homogènes. A la longue, en prélevant prudemment au bord de la colonie une parcelle striée et en prenant soin de ne pas toucher à sa partie homogène, on parvenait à obtenir sur une plaque de Petri deux espèces de colonies : les unes composées de longs et gros bâtonnets et ayant l'aspect strié, et les autres homogènes, composées de courts cocco-bacilles (1).

L'ensemencement en strie, fait avec ces colonies sur la gélose inclinée, donnait respectivement un enduit homogène et un enduit strié. Cette sélection n'était cependant que passagère, et dans les ensemencements ultérieurs on constatait la tendance du microbe étudié à donner simultanément les deux formes de bâtonnets en question avec prédominance des formes courtes. On observait en outre ce fait curieux : lorsque au bout de deux ou trois jours on examinait de nouveau au microscope contenant la culture striée, le tableau était tout autre; on ne trouvait que des formes courtes, sans qu'on pût s'expliquer la cause de ce changement. Nous avons ici un cas intéressant de variation morphologique bien distinct, mais en même temps très peu stable. L'étude de ce microbe polymorphe démontra que, d'après ses propriétés physiologiques, il appartient au type du *Bac. coli communis* B., d'après la classification de Jensen; il provoque, en effet, la fermentation énergique du lactose avec développement de gaz, ainsi que du maltose et du dextrose, mais ne digère pas le saccharose. La variété striée avait cette propriété à un degré plus actif. Ce microbe était très pathogène pour les animaux et tuait le lapin en 23 à 36 heures à la suite de l'inoculation sous-cutanée d'un quart de centimètre cube de la culture en bouillon : la mort survenait quelquefois avant les 24 heures; à l'autopsie on constatait un exsudat sanguinolent dans le péritoine, une con-

(1) Le fait a une grande analogie avec ce qu'a observé M. Barthlein dans des colonies d'un microbe du groupe des paratyphiques (*Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundh.*, décembre 1913, p. 631).

gestion des intestins gros et grêle, une pullulation abondante de ce microbe dans le sang et dans les organes; la rate n'était pas augmentée.

II. *Microbes se colorant par le Gram.* — A part le *Bac. bifidus*, que nous avons trouvé presque toujours, nous avons isolé très souvent les acidophiles; ensuite le *Bac. perfringens*, 8 fois; le *Bac. mesentericus*, 2 fois; le *Bac. mycoides* Flügge, 6 fois; ainsi qu'assez souvent de petits bâtonnets du groupe de bacilles pseudo-diphtériques; nous avons isolé ensuite les sarcines, les *Staphylococcus*, les *Streptococcus*, les levures et les *Oïdium*.

*
* *

Expériences sur l'alimentation des lapins avec les cultures microbiennes.

Il était intéressant de vérifier par l'expérience, s'il est possible de provoquer un tableau typique des diarrhées infantiles chez les animaux en leur introduisant *per os*, avec la nourriture, les cultures pures des microbes isolés par nous des gastro-entérites infectieuses et celles du *Bac. proteus vulgaris* en particulier. La réalisation de telles expériences me paraissait d'autant plus intéressante que Bahr n'avait obtenu que des résultats négatifs à la suite de l'introduction *per os* de cultures pures de microbes, isolés par lui dans des cas de gastro-entérites infantiles. Cela résultait d'un travail intéressant qu'il publia dans ces derniers temps. Il est vrai qu'il n'avait expérimenté que sur des lapins et des cobayes adultes; on pouvait donc supposer qu'ils ne se montreraient relativement que peu sensibles à l'infection par la voie intestinale, — c'est pour cela que je me suis arrêtée sur des lapins à la mamelle. Ces petits lapins, au nombre de 14, appartenaient à trois nichées.

N'ayant pas la possibilité d'expérimenter sur un nombre considérable d'animaux, je me suis bornée à la réalisation des expériences avec les cultures de deux microbes : celles du *Bac. proteus vulgaris* et du *Bac. coli* B, décrites plus haut. Tous les lapins, sauf deux témoins, recevaient *per os* une émulsion de cultures des microbes mentionnés avec du lait

bouilli et dans des conditions absolument identiques. On les alimentait très abondamment à deux ou trois reprises par jour. On se srevait de cultures sur de la gélose et dans du bouillon. Six lapins n'ont reçu que le *Proteus vulgaris*; deux, le *Bac. coli* B et quatre un mélange de culture de *Proteus vulgaris* et de *Bac. coli* B. Les résultats de ces expériences sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Nom des microbes	*B. proteus*	*B. coli* B	*B. proteus* + *B. coli* B
Nombre total de lapins . . .	6	2	4
Nombre des lapins morts . .	2	0	3
Nombre de lapins morts 0/0.	33	0	75

De ce tableau ressort évidemment non seulement la virulence du *Bac. proteus vulgaris*, mais, de plus, l'augmentation de cette virulence à la suite de la symbiose de ce microbe avec le *Bac. coli*.

Les lapins ont péri le 5ᵉ jour après l'introduction de l'agent infectieux; pendant ce temps ils diminuaient de poids, et dans la dernière période de la maladie on observait chez eux la diarrhée. L'autopsie révéla une forte infection et des phénomènes d'intoxication chez tous les lapins morts : exsudat dans le péritoine, congestion de la muqueuse des intestins gros et grêle; ces derniers étaient remplis d'un liquide jaunâtre. Les préparations microscopiques, faites avec le contenu de leur intestin, démontrèrent la présence presque exclusive des coccobacilles, ne prenant pas le Gram. L'ensemencement d'une anse de platine de ce contenu liquide de l'intestin sur des boîtes de Petri, ainsi que sur de la gélose inclinée, démontra le lendemain la croissance abondante et presque exclusive du *Bac. proteus vulgaris*. Dans les cas où l'on faisait ingérer aux lapins le mélange des deux cultures ci-dessus mentionnées, on pouvait constater dans le contenu intestinal, ainsi que dans les excréments de ces animaux, la présence des deux microbes, mais le *Bac. coli* B n'était jamais aussi abondant que le *Proteus vulgaris*. Les mêmes microbes ont pu être décelés chez les animaux morts à l'examen microscopique et bactériologique de l'exsudat, des organes et du sang de cœur. Il n'y eut qu'un cas d'infection mixte où les microbes ingérés ne furent décelés que dans l'intestin. Quant aux lapins, qui n'ont pas péri à la suite de l'alimentation infectée, ils ne présentaient aucun symptôme de

malaise; ils étaient gais et avaient augmenté de poids, comme les témoins, malgré les quantités considérables de microbes ingérés. Ce phénomène démontre l'influence des particularités individuelles des animaux, influence dont la nature n'est pas encore élucidée. Il est possible que nous soyons ici en présence du fait de l'influence des microbes antagonistes, ainsi que cela a été signalé par M. Metchnikoff dans l'étude de l'étiologie du choléra asiatique. Il est intéressant de noter que tous les lapins qui avaient survécu à la suite de l'ingestion de cultures microbiennes ont ensuité péri rapidement (au bout de 1-2 jours) après l'injection sous la peau de ces mêmes microbes en quantité insignifiante (1/4 de c. c. d'une culture en bouillon). Dans ce cas le tableau anatomo-pathologique, observé à l'autopsie, rappelait complètement celui qu'on avait observé chez les lapins morts à la suite de l'introduction des microbes, *per os*.

On a procédé à une autre série d'expériences tout analogues à la première sur de jeunes lapins, mais non à la mamelle, âgés d'un mois à peu près et pesant 400-450 grammes. Ils étaient au nombre de 8; sur ce nombre quatre ont été soumis à l'alimentation avec le *Bac. proteus vulgaris* seul, et quatre autres avec le mélange du *Bac. proteus vulgaris* avec le *Bac. coli* B. Il n'en périt qu'un seul, nourri avec le mélange des cultures, le 5e jour; il présentait des signes de diarrhée; ses pattes de derrière étaient souillées de matière fécale; en outre, on observait autour de la bouche et du nez des signes d'écoulement de sang. L'autopsie révéla le même tableau que celui observé chez les lapins à la mamelle. L'examen bactérioscopique et bactériologique du contenu intestinal et du sang démontra la présence en quantité considérable du *Bac. proteus vulgaris*. Les sept autres lapins ne présentaient aucun signe de malaise et avaient augmenté de poids, mais dès qu'ils eurent reçu les mêmes cultures microbiennes, en injection, ils périrent rapidement, en présentant tous les phénomènes habituels d'intoxication et d'infection, propres aux microbes en question.

Dans les tableaux ci-joints j'indique quelques exemples des documents que j'ai reçus, en même temps que les matières à examiner.

ÉPIDÉMIE DE 1910

N^{os} des observations	ALIMENTATION	AGE en MOIS	DEGRÉ DE LA MALADIE	JOUR de la MALADIE	ISSUE de la MALADIE	MICROBES ISOLÉS
1	Biberon.	9	Cas moyen. Diarrhée, 9 à 10 fois par jour.	2e	Guérison.	*Proteus vulgaris*, *Bac. lactis aerogenes*.
2	»	4	Cas grave. Diarrhée, 15 à 20 fois par jour.	3	Mort.	*Proteus vulgaris*, en abondance.
3	Régime mixte (biberon et sein).	10	Cas moyen. Diarrhée, 8 à 10 fois par jour.	2	Guérison.	*Proteus vulgaris*.
4	Biberon.	7	Cas bénin. Diarrhée, 3 à 4 fois par jour.	2	»	*Streptococcus*. *Staphylococcus aureus*.
5	Régime mixte (biberon et sein).	5	Cas grave. Diarrhée, 15 à 20 fois par jour.	4	Mort.	*Proteus vulgaris*, *Bac. mesentericus*.
6	»	8	Cas bénin. Diarrhée, 5 à 6 fois par jour.	2	Guérison.	*Proteus vulgaris*.
7	»	11	Cas bénin. Diarrhée, 3 à 4 fois par jour.	2	»	*Streptococcus*, *Staphylococcus*.
8	»	9	Cas moyen. Diarrhée, 10 à 12 fois par jour.	3	»	*Proteus vulgaris*.
9	»	4	Cas grave. Diarrhée, 15 à 20 fois par jour.	3	»	*Proteus vulgaris*.
10	Biberon.	4	Cas grave. Diarrhée, 15 à 20 fois par jour.	3	Mort.	Bacille de Morgan. *Bac. perfringens*.
11	Régime mixte (biberon et sein).	10	Cas moyen. Diarrhée, 8 à 10 fois par jour.	2	Guérison.	*Proteus vulgaris*.
12	Biberon.	7	Cas bénin. Diarrhée, 3 à 4 fois par jour.	2	»	*Proteus vulgaris*.
13	Régime mixte (biberon et sein).	5	Cas grave. Diarrhée, 15 à 20 fois par jour.	4	Mort.	*Proteus vulgaris*. *Bac. mycoides* Flügge.

ÉPIDÉMIE DE 1911

Nos des observations	ALIMENTATION	AGE en MOIS	DEGRÉ DE LA MALADIE	JOUR de la MALADIE	ISSUE de la MALADIE	MICROBES ISOLÉS
1	Biberon.	12	Cas grave. Diarrhée, 15 à 20 fois par jour.	3e	Guérison.	*Proteus vulgaris*, *Bac. coli* B.
2	Régime mixte (biberon et sein).	11	Cas moyen. Diarrhée, 15 fois par jour.	4	»	*Proteus vulgaris*.
3	»	10	Cas très grave	3	Mort.	Bacille de Morgan, *Bac. mesentericus*.
4	Biberon.	7	Cas moyen. Diarrhée, 10 à 12 fois par jour.	3	Guérison.	*Bac. perfringens*, *Sarcina*.
5	»	12	Cas moyen. Diarrhée, 1 à 10 fois par jour.	2	»	*Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*.
6	Régime mixte (biberon et sein).	3	Cas grave. Diarrhée, 15 à 20 fois par jour.	4	Mort.	*Proteus vulgaris*, Bacille de Morgan.
7	»	11	Cas bénin. Diarrhée, 3 à 4 fois par jour.	3	Guérison.	*Bac. pyocyaneus*, *Proteus vulgaris*.
8	»	6	Cas bénin. Diarrhée, 5 à 6 fois par jour.	5	»	*Proteus vulgaris*, *Sarcina*.
9	»	4	Cas moyen. Diarrhée, 7 à 8 fois par jour.	2	»	*Bac. perfringens*, *Bac. mesentericus*.
10	»	8	Cas grave.	4	Mort.	*Proteus vulgaris*, en abondance.
11	»	12	Cas moyen. Diarrhée, 8 à 10 fois par jour.	4	Guérison.	*Proteus vulgaris*, *Staphylococcus*.
12	»	8	Cas moyen. Diarrhée, 8 à 10 fois par jour.	4	»	*Proteus vulgaris*, en abondance.
13	»	8	Cas moyen. Diarrhée, 6 à 7 fois par jour.	3	»	*Proteus vulgaris*, *Bac. lactis aerogenes*.
14	»	1	Cas grave.	4	»	*Proteus vulgaris*, *Bac. coli* B.

ÉPIDÉMIE DE 1912

Nos des observations	ALIMENTATION	AGE en MOIS	DEGRÉ DE LA MALADIE	JOUR de la MALADIE	ISSUE de la MALADIE	MICROBES ISOLÉS
1	Régime mixte (biberon et sein.)	6	Cas moyen. Diarrhée, 5 à 6 fois par jour.	2e	Guérison.	*Proteus vulgaris*, *Oïdium albicans*.
2	»	8	Cas grave. Diarrhée, 15 à 20 fois par jour.	3	»	*Proteus vulgaris*, en abondance, *Sarcina flava*.
3	»	9	Cas moyen. Diarrhée, 8 à 10 fois par jour.	4	»	*Proteus vulgaris*, *Bac. coli* B.
4	»	8	Cas moyen. Diarrhée, 8 à 10 fois par jour.	3	»	*Proteus vulgaris*, *Bac. dysenter.* Flexner.
5	»	11	Cas bénin	2	»	*Streptococcus*, *Staphylococcus*.
6	»	11	Cas bénin	3	»	*Sarcina flava*, en abondance. *Proteus vulgaris*.
7	»	11	Cas moyen. Diarrhée, 10 à 12 fois par jour.	4	»	*Proteus vulgaris*, *Bac. perfringens*.
8	»	6	Cas moyen. Diarrhée, 8 à 10 fois par jour.	2	»	*Proteus vulgaris*, *Staphylococcus*, *Bac. dysenter.* Flexner.
9	»	3	Cas bénin. Diarrhée, 5 à 6 fois par jour.	2	»	*B. mycoides* Flügge, *Staphylococcus*, *Sarcina flava*.
10	»	2	Cas moyen	3	»	*Proteus vulgaris*.
11	Sein.	3	Cas grave	2	Mort.	*Proteus vulgaris*, *Bac. perfringens*.
12	»	1	Cas grave	2	Guérison.	*Proteus vulgaris*, *Bac. coli* B.

*
* *

Résumé et conclusion.

En résumant les résultats des recherches ci-dessus décrites, nous voyons que, dans les 78 cas de gastro-entérites infantiles examinés, la composition normale de la flore microbienne intestinale a toujours éprouvé des changements essentiels à la suite de l'invasion des microbes étrangers. En outre, dans 65 p. 100 des cas, on a isolé le *Proteus vulgaris*, se distinguant par des propriétés très virulentes. A côté du *Bac. proteus vulgaris*, nous avons isolé le *Bac. perfringens* dans 10 p. 100 des cas; les différents microbes pathogènes appartenaient au groupe coli-typhus dans 7 p. 100 des cas; puis, plus rarement, on rencontrait le Bac. pyocyanique. les Streptocoques, les Staphylocoques, les Sarcines, les levures et les *Oïdium*. Ainsi l'opinion que le *Proteus vulgaris* joue un rôle essentiellement étiologique dans les diarrhées infantiles, opinion émise pour la première fois par M. Metchnikoff, reçoit une pleine confirmation dans nos observations. La présence simultanée dans l'intestin d'un enfant malade de plusieurs espèces microbiennes pathogènes, et surtout celle du *Proteus vulgaris*, en même temps que du *Bac. perfringens*, du *Bac. coli*, etc., démontre que le phénomène de symbiose joue un rôle important dans les gastro-entérites infectieuses. La justesse de cette opinion, émise déjà par M. Metchnikoff et confirmée par les recherches de son élève Albert Berthelot, est confirmée une fois de plus par mes expériences d'alimentation de jeunes lapins avec les cultures mélangées du *Bac. vulgaris* et du *Bac. coli* B. La présence de divers microbes pathogènes dans le canal intestinal des nourrissons pendant les diarrhées permet de supposer qu'à tous ces micro-organismes revient aussi un certain rôle, bien que peut-être secondaire, dans l'étiologie des gastro-entérites infectieuses des enfants, et que ces maladies des nourrissons peuvent être évidemment provoquées non pas exclusivement par une espèce microbienne quelconque déterminée, ni même par un groupe déterminé de microbes, mais par des bactéries très variées et surtout dans des conditions de symbiose. Et, en

réalité, de toutes les parties de l'organisme humain qui sont en contact avec le monde extérieur et qui peuvent servir de terrain au développement des microbes en général et des microbes pathogènes en particulier, c'est le canal intestinal qui présente à la fois les conditions les plus favorables et les plus variées; on comprend donc que les microbes provoquant les maladies intestinales puissent être plus variés et plus riches de formes que ceux de la membrane muqueuse des voies respiratoires, par exemple. On peut cependant noter que, de tous ces microbes, c'est le *Proteus vulgaris* qui joue le rôle le plus important dans l'étiologie de ces maladies infectieuses. Quant aux bactéries du groupe coli-typhique, qu'on rencontre chez les nourrissons, leur rôle est encore assez mal élucidé, mais, étant donné que les représentants de ce groupe provoquent chez les adultes toute une série de maladies plus ou moins graves de l'intestin, il n'y a rien d'impossible à ce que l'organisme des nourrissons soit également accessible à leur action pathogène.

* * *

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

1. Baginsky. 1° Zur *Bac. pyocyaneus*-Infection im kindlichen Alter. *Centrbl. f. Bakteriologie*, Abt. I, Bd 47, 1907.
— 2° Ueber *Cholera infantum. Archiv f. Kinderheilkunde*, Bd 12, 1891.
2. Bahr. Untersuchungen über die Ætiologie der *Cholera infantum. Centrbl. f. Bakteriologie*, Abt. I, Originale, Bd 66, p. 335.
3. Bahr und Thomsen. — *Ibid.*, p. 365.
4. Berthelot (A.). 1° Recherches sur quelques caractères du *Proteus vulgaris. Thèse de médecine*, 1913, Paris.
— 2° Recherches sur la flore intestinale. Nouvelles données expérimentales sur le rôle pathogène de certaines associations microbiennes. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1914, t. XXVIII, p. 132.
5. Bertrand (D.-M.). Recherches sur la flore intestinale dans la diarrhée des nourrissons. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1914, t. XXVIII, p. 121.
6. Booker. A bacteriological and anatomical study of the summer diarrhoeas of infants. *The John Hopkins Hospital Reports*, vol. VI, 1896.
7. Escherich. 1° *Die Darmbakterien der Säuglinge und ihre Beziehungen zur Physiologie der Verdauung.* Stuttgart, 1886.
— 2° Epidemisch auftretende Brechfälle in Säuglings-Spitälern. *Jahrbuch f. Kinderheilkunde*, Bd 52, 1900, p. 1.
— 3° Ueber Streptokokkenenteritis im Säuglingsalter. *Jahrbuch f. Kinderheilkunde*, Bd 49, Heft I, p. 137.
— 4° Ueber specifische Krankheitserregern der Säuglingdiarrhöen (Streptokokkenenteritis). *Wiener klinische Wochenschrift*, 1897.

8. Finkelstein. 1° Ueber Morbidität und Mortalität in Säuglings-Spitälern und deren Ursachen. *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd 28, 1898.

— 2° Zur Ætiologie der follikul. Darmentzündungen der Kinder. *Deutsche medic. Wochenschr.*, 1896.

— 3° Ueber alimentäres Fieber. *Ibid.*, 1909, p. 120.

— 4° Ueber den Sommergipfel der Säuglingssterblichkeit. *Deutsche medic. Wochenschr.*, 1909, p. 1377.

9. Gildemeister und Baerthlein. *Deutsche medic. Wochenschr.*, 1913, p. 982.

10. Horowitz (L.). Contribution à la bactériologie et épidémiologie des entérites aiguës. (En russe.) *L'hygiène et Sanitarnoe delo*, n° 4, 1914.

11. Jensen. Kälberruhr. *Kolle und Wassermann Handbuch der pathog. Micro-organ.*, Aufl. 2, 1913, Bd 6, p. 121.

12. Lesage. 1° De la dyspepsie et de la diarrhée verte des enfants du premier âge. *Rev. de Méd.*, 1880, n° 1, 1887, n° 12.

— 2° Du bacille de la diarrhée verte. *Arch. de Phys.*, 1888, n° 21, p. 212.

13. Marfan. Rôle des microbes dans les gastro-entérites des nourrissons, *Revue mensuelle des maladies de l'enfance*, I, 2 f., octobre 1899, p. 27.

14. Meyer (L.). Die Morbidität und Mortalität der Säuglinge im Sommer. *Deutsche medic. Wochenschr.*, 1911, n° 45, p. 2090.

15. Metchnikoff. 1° Recherches sur les diarrhées des nourrissons. *Bull. de l'Acad. de Médecine*, 1909, t. LXII, p. 326.

— 2° Étude sur la flore intestinale (quatrième mémoire). Les diarrhées des nourrissons. *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1913, p. 89.

— 3° Recherches sur le choléra et les vibrions. *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1893, p. 403 et 562; 1894, p. 257 et 529.

16. Morgan. 1° *British medic. Journal*, 1906-1907.

— 2° *Proceedings of the Royal Soc. of. Med.*, 1909.

17. Moro. 1° Ueber die nach Gram färbbaren Bacillen des Säuglingsstuhles. *Wiener klinische Wochenschr.*, 1900, n° 5.

— 2° Ueber den *Bac. acidophilus n. spec. Jahrbuch f. Kinderheilkunde*, 1900, Bd 52, p. 38.

18. Rimpau. Bakteriologische Befunde bei Untersuchungen darmkranker Kinder. *Arbeiten aus d. Kaiserl. Gesundh.*, 1911, Bd 38, Heft 3, p. 384.

19. Ritschel. *Jahrbuch f. Kinderheilkunde*, sept. 1913, p. 312.

20. Spiegelberg. Ein weiterer Beitrag zur Streptokokkenenteritis im Säuglingsalter. *Centrbl. f. Bakteriologie*, Bd 24, Abt. I, 1898.

21. Schumburg.. Wurstvergiftung. *Zeitschrift f. Hyg.*, 1902, Bd 41, p. 184.

22. Tissier. 1° Recherches sur la flore intestinale normale et pathologique des nourrissons. *Thèse de Paris*, 1900.

— 2° Étude d'une variété d'infection intestinale chez les nourrissons. *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1905, p. 190 et 273.

— 3° *Tribune médicale*, 1906, p. 117.

23. Vincent. Rôle pathogène du *Proteus* dans les infections alimentaires. *Bull. de l'Acad. de Médecine*, t. LXII, 1909, p. 338.

LÉGENDE DE LA PLANCHE VIII

FIG. 1. — Frottis de matières fécales d'un enfant sain de deux mois, nourri au sein. *Bac. bifidus*, presque en culture pure. Coloration au Gram.

FIG. 2. — Frottis de matières fécales d'un nourrisson atteint de gastro-entérite. Développement abondant des coccobacilles (*Bac. coli communis*, *Bac. lactis aerogenes*, *Bac. proteus*). *Bac. bifidus* abondant. Coloration au Gram et à la fuchsine.

FIG. 3. — Frottis de déjections d'un nourrisson atteint de gastro-entérite. Les coccobacilles ne prenant pas le Gram prédominent (*Bac. coli communis*, *Proteus vulgaris* en abondance). Une petite quantité de *Bac. bifidus*; on en observe des formes ramifiées au bout.

FIG. 4. — Frottis de matières fécales d'un nourrisson atteint de gastro-entérite. *Bac. bifidus* est chassé par d'autres bactéries. Coccobacilles avec une coloration inégale (*Bac. coli communis*, *Proteus vulgaris*), bacilles portant des spores, *Bac. perfringens* coloré au Gram, *Bac. acidophilus*.

FIG. 5. — Frottis de déjections d'un enfant malade de gastro-entérite. *Bac. bifidus* en petite quantité, des coccus pyogenes, *Enterococcus*, trace de pus.

FIG. 6. — Frottis de déjections d'un nourrisson malade de gastro-entérite. Pas de *Bac. bifidus*. Des bacilles, qui ne se colorent pas au Gram, prédominent (Bacille de Morgan, *Bac. coli communis*).

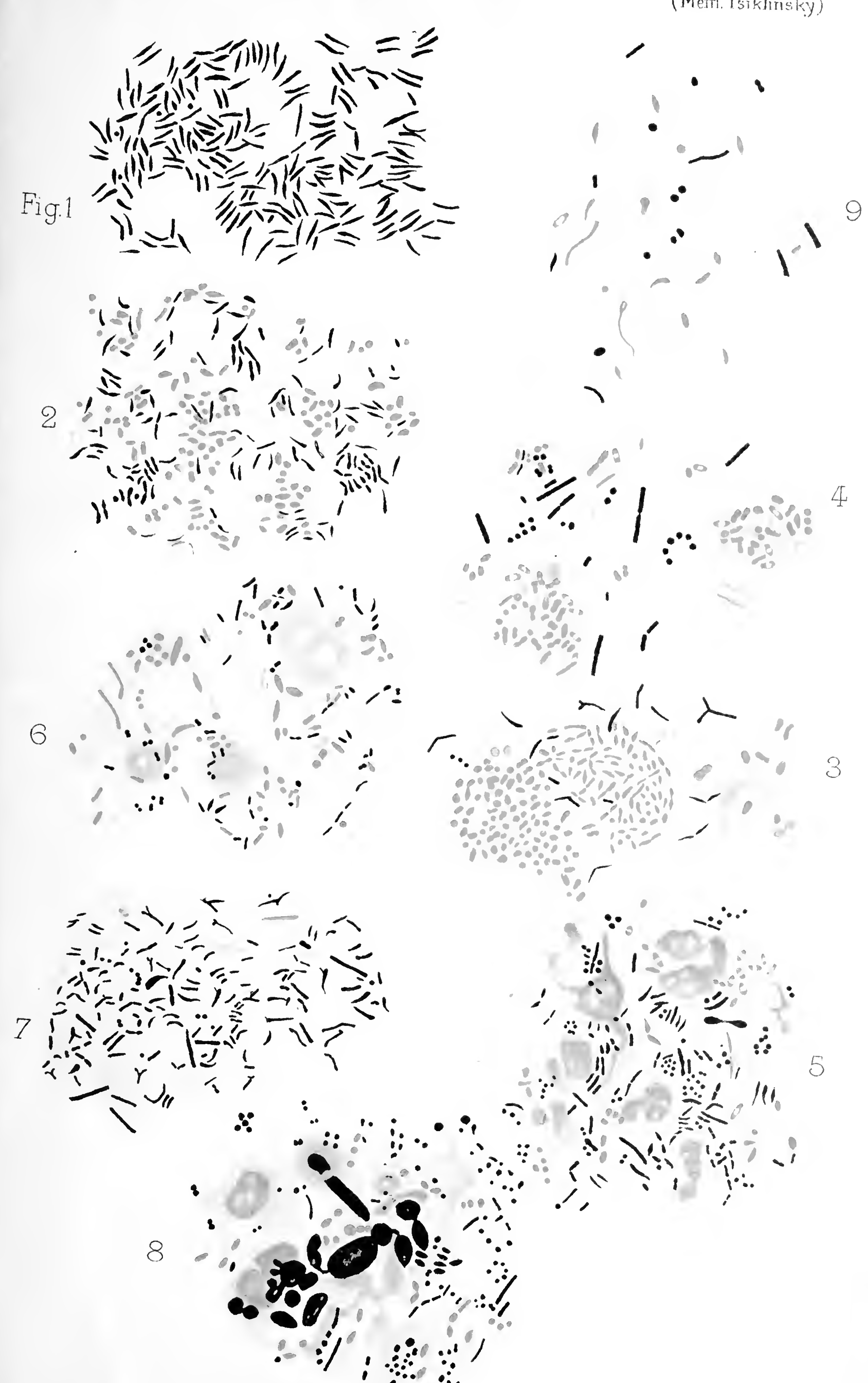
FIG. 7. — Frottis de déjections d'un nourrisson malade de gastro-entérite. Prédominent les bactéries prenant le Gram : « Blaubacillose ». Une quantité considérable de *Bac. bifidus*, dont plusieurs individus sont ramifiés, *Bac. acidophilus*, *Bac. mesentericus*, *Bac. perfringens*.

FIG. 8. — Frottis de déjections d'un nourrisson malade de gastro-entérite. Quantité considérable de cocci pyogenes, *Bac. bifidus* en petite quantité, coccobacilles colorés à la fuchsine (*Bac. proteus vulgaris*, *Bac. coli communis*), levures, présence de pus.

FIG. 9. — Frottis de matières fécales d'un enfant sain nourri au biberon, Une grande variété d'espèces bactériennes, dont pas une ne prédomine ; *Bac. acidophilus*, *Bac. coli communis*, *Bac. lactis aerogenes*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bac. bifidus* en petit nombre; tous ces microbes sont espacés. Le tableau microscopique de déjections des enfants nourris au biberon ne se distingue pas par cette constance que l'on observe chez des nourrissons nourris au sein, et peut varier d'un enfant à l'autre.

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.



C. Constantin lith.

Imp. d'Art L. Lafontaine, Paris.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXXI. — 1917. Novembre. — N° 11.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX



PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

SECRÉTAIRE DE LA RÉDACTION : CAMILLE RAVEAU
BIBLIOTHÉCAIRE DE L'INSTITUT PASTEUR
25, RUE DUTOT — PARIS (XVe)

Les annonces sont reçues à l'Économat de l'Institut Pasteur.

PRIX DE L'ABONNEMENT. — FRANCE : **22** francs; UNION POSTALE : **25** francs; PRIX D'UN NUMÉRO : **2** francs.

BULLETIN

DE LA

Société de Pathologie exotique

Siège de la Société : Institut Pasteur, Paris

Paraît 10 fois par an, 15 jours après chaque séance qui a lieu le 2e mercredi du mois, sauf en août et septembre.

Le volume de 1915, qui atteint 800 pages, avec figures dans le texte et planches hors texte, ne le cède en rien, malgré les circonstances, à ceux des années précédentes.

PRIX DE L'ABONNEMENT :

France : 18 fr. — Union postale : 20 fr.

P. LEQUEUX*, Ingénieur des Arts et Manufactures

Maison WIESNEGG, 64, rue Gay-Lussac, Paris

Fournisseur de l'Institut Pasteur et de la Faculté de médecine de Paris

STÉRILISATEURS, ÉTUVES, APPAREILS DE DÉSINFECTION

Installations de Laboratoires de bactériologie.

Exposition univ. Paris 1900 : DEUX GRANDS PRIX

MICROSCOPES NACHET

Magasins et Ateliers : **17, rue Saint-Séverin, PARIS.**

GRAND PRIX (Exposition de Bruxelles 1910)

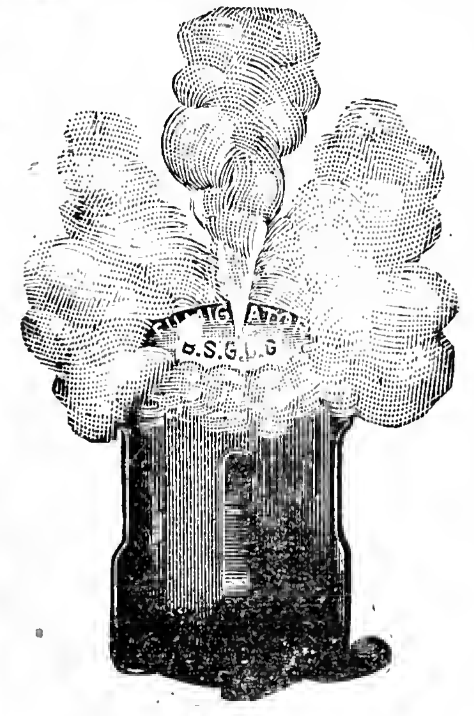
FUMIGATOR GONIN

PROCÉDÉ DE DÉSINFECTION A L'ALDÉHYDE FORMIQUE

Breveté S. G. D. G.

Approuvé par le Conseil supérieur d'Hygiène publique de France | Autorisé par Décision ministérielle du 9 février 1904

Le **FUMIGATOR** est le plus *simple* et le plus *discret* des procédés de désinfection



Fumigator n° 4 au 5°.

MODE D'EMPLOI

Cuber la pièce à désinfecter. Se munir d'autant de fumigators n° 4 qu'il y a de fois 20$^{m^3}$. Pour les fractions supplémentaires, on prend des n°s 3.

Chaque fumigator est livré avec son support et ne nécessite aucun accessoire supplémentaire.

PRIX :

Le FUMIGATOR n° 3, au FORMOL, pour 15$^{m^3}$. 2 fr. 75

— n° 4, — pour 20$^{m^3}$. 3 fr. 30

N.-B. — Chaque fumigator est accompagné d'un certificat de désinfection.

Adresser les commandes aux

ÉTABLISSEMENTS GONIN

60, rue Saussure, PARIS (17°). — *Téléph.*: 517-23.

SAVONS ANTISEPTIQUES VIGIER

HYGIÉNIQUES ET MÉDICAMENTEUX

Pharmacie · 12, boulevard Bonne-Nouvelle, PARIS

SAVONS doux, surgras au Cacao, à la Glycérine (*pour le visage, la poitrine, le cou*, etc.). Panama, Panama et Goudron, Naphtol soufré, Goudron et Naphtol *pour les soins de la chevelure, de la barbe, pellicules, séborrhée, alopécie, maladies cutanées*, Sublimé, Phéniqué, Boriqué, Créoline, Résorcine, Salicylé, au Solvéol, Thymol (*accouchements, anthrax, rougeole, scarlatine, variole*, etc.), à l'Ichthyol, Panama et Ichthyol, Sulfureux, à l'huile de Cade, Goudron, Boraté, au Tannoforme contre *les sueurs*, B. du Pérou et Pétrole, *gale, parasites*.

SAVON DENTIFRICE VIGIER

LE MEILLEUR DENTIFRICE ANTISEPTIQUE

pour l'entretien des dents, gencives, muqueuses. Il prévient les accidents buccaux. Prix de la boite porcelaine : 3 fr

31e ANNÉE NOVEMBRE 1917 N° 11

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA RAGE DU COBAYE

par P. REMLINGER.

Pasteur, Chamberland et Roux ont établi dès 1884 que les cobayes prenaient la rage et que la virulence rabique s'exaltait dans les passages de cobaye à cobaye comme dans les passages de lapin à lapin. Ils ont montré que les cobayes conduisaient plus vite que les lapins au maximum de virulence qui leur était propre, qu'après un très petit nombre de passages — 7 ou 8 — on aboutissait à un virus qui donnait la rage après 5 ou 6 jours, et que, si on reportait ce virus exalté sur le chien, on obtenait un virus rabique du chien qui dépassait de beaucoup la virulence habituelle de la maladie chez ce dernier animal (1). Les travaux de Galtier, de Babès n'ont ajouté que peu de chose à ces données fondamentales. Si, depuis les premiers temps de l'époque pastorienne, il est fait usage du cobaye dans les laboratoires pour les recherches sur la rage et tout particulièrement dans les Instituts antirabiques pour le diagnostic expérimental chez les animaux mordeurs, il n'a été consacré aucun travail d'ensemble à cette rage du cobaye, à sa symptomatologie, qui est extrêmement variée, à l'influence qu'exercent sur elle un certain nombre de facteurs..., etc. Ayant eu l'occasion, au cours d'expériences récentes, d'observer de cette

(1) *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 25 février, 19 mai, 11 août 1884.

maladie, chez le cobaye, un très grand nombre de cas provenant d'inoculations très diverses, nous avons pensé qu'il pourrait y avoir quelque intérêt à rassembler en une courte étude les principales données acquises au cours de ces travaux.

PRINCIPALES FORMES CLINIQUES

La physionomie clinique de la rage du cobaye est, comme nous venons de le dire, loin d'être uniforme. Chez l'animal inoculé avec du virus de rue, la forme furieuse est une des plus fréquemment observées, mais tous les intermédiaires existent entre les modalités les plus violentes et au contraire les plus atténuées.

Forme furieuse proprement dite.

Les symptômes, qui, presque toujours, attirent les premiers l'attention, sont le hérissement des poils et l'agitation de l'animal qui va et vient dans sa cage de façon anormale. En même temps, la respiration s'accélère; le regard acquiert une vivacité particulière et le cobaye fait entendre une sorte de « gloussement » plaintif, légèrement différent de son cri habituel. Ces symptômes vont rapidement en s'aggravant. Le hérissement des poils s'exagère et l'animal prend un aspect très caractéristique « en boule » ou mieux en « porc-épic ». L'œil en feu, il parcourt sa cage en tous sens, mordant les barreaux, passant sa tête entre eux au risque de s'étrangler. Il a perdu tout appétit et éparpille sa nourriture qui, bientôt, jonche le sol en désordre. Il glousse de plus en plus, bave légèrement et fait dans la cage de véritables bonds. L'excitation génitale est très vive. Si l'on met avec lui un de ses congénères, tantôt il le mord cruellement (1), tantôt, au contraire, il lui témoigne sa sympathie... sans grande préoccupation de sexe, sem-

(1) Au cours d'expériences sur l'hérédité de la rage, nous avons intentionnellement, afin de nous rapprocher davantage des conditions de la pratique, soumis de nombreux cobayes à la morsure de leurs congénères enragés. Les lésions étaient parfois si profondes ou si étendues qu'elles amenaient la mort dès le lendemain ou le surlendemain. Particularité assez curieuse, aucun des survivants n'a contracté la rage.

ble-t-il (1). Il s'attaque également au lapin qu'il cherche à mordre. Jamais, au contraire, nous n'avons vu un cobaye, si furieux fût-il, se montrer agressif pour l'homme. Au cours des bonds désordonnés qu'il fait dans sa cage, il arrive à l'animal de tomber sur le côté. Il se relève et reprend sa course. Un moment arrive où celle-ci devient chancelante et comme ébrieuse. Le cobaye se relève alors avec une difficulté croissante et, enfin, il ne peut plus y parvenir. Il demeure étendu, en proie à une vive dyspnée, le tronc et les membres secoués de petits soubresauts qui vont s'atténuant pendant que, de son côté, la respiration diminue peu à peu d'amplitude. La mort alors ne tarde pas à se produire. Il arrive aussi qu'elle ait lieu subitement avant l'ébauche de toute paralysie.

Obs. I. — Un cobaye mâle et un lapin ont été inoculés sous la dure-mère, le 13 octobre avec un virus de rue provenant d'un 10e passage par le cobaye.

Le 18 au matin (5e jour) le cobaye est trouvé dans sa cage les poils hérissés, le regard excité. Il « glousse » et ne peut demeurer en place. L'après-midi, l'agitation est extrême. L'œil en feu, l'animal parcourt sa cage en tous sens, mordant les barreaux, éparpillant l'orge, faisant des bons, sautant par-dessus le lapin et cherchant à le mordre. Celui-ci, tout à fait indemne encore, contemple ce spectacle d'un air placide et pare très adroitement les coups. Un autre cobaye — mâle également — est mis avec le malade qui immédiatement se jette sur lui et le mord cruellement tantôt sur le dos, tantôt au museau. Une véritable lutte s'engage.

14 h. 45. Bonds de plus en plus violents.

14 h. 50. Dyspnée croissante. L'animal paraît s'épuiser.

15 h. Le cobaye s'épuise nettement. Il est moins agressif et les bonds qu'il fait dans sa cage sont de moins en moins violents. Parfois il tombe sur le côté et ne se relève qu'avec peine. La démarche devient un peu hésitante.

15 h. 10. Dyspnée de plus en plus forte.

15 h. 15. Tombé sur le côté, le cobaye ne peut plus se relever. Des sou-

(1) Cette excitation génitale est facile à constater chez les mâles. Il est fréquent à l'autopsie, de constater à l'extrémité de la verge la présence du sperme. Celui-ci forme parfois à la face interne des cuisses des traînées demi-molles de plusieurs centimètres de long. Au cours de la maladie, l'excitation est parfois telle que la sexualité paraît indifférente. On voit des mâles se jeter sur des mâles, flairer leurs organes génitaux et se livrer sur eux à un pseudo-coït. Une pareille homosexualité s'observe également chez les femelles. Même en nous plaçant dans les conditions les plus favorables, jamais, au cours de très nombreuses expériences, nous n'avons pu mettre en évidence la présence du virus rabique soit dans le sperme et les vésicules séminales, soit dans le testicule et l'ovaire.

bresauts ébranlent tout le corps et l'animal pousse de petits cris plaintifs. Il meurt brusquement à 15 h. 30 (1).

Obs. II. — Le 9 septembre, un cobaye est inoculé avec un virus de rue ayant déjà passé trois fois par le cobaye. Le 16 (7e jour), l'animal paraît tout à fait normal. Le lendemain au matin (8e jour), on le trouve les poils hérissés, le regard brillant, en proie à une violente dyspnée. Il s'agite dans sa cage qu'il parcourt en tous sens en gloussant. Le soir, l'agitation a augmenté. Le regard est allumé. L'animal fait des bonds désordonnés au cours desquels il se frappe violemment la tête contre les barreaux de sa cage. Il cherche à mordre ceux-ci. Il mord de même très violemment deux cobayes qu'on a intentionnellement introduits auprès de lui. Dyspnée très vive. Tout à coup, à 16 h. 40, au cours d'un bond plus fort que les autres, l'animal tombe sur le côté et ne peut plus se relever. Il demeure étendu, le tronc et les membres agités par de petites secousses convulsives et pousse des cris aigus. De temps à autre il fait pour se relever un effort qui reste vain. Mort à 18 heures.

Forme furieuse atténuée.

Il s'en faut de beaucoup que la rage évolue toujours chez le cobaye avec une pareille violence. Dans certains cas, la maladie est si atténuée dans son expression symptomatique qu'elle paraît à peine mériter le nom de rage furieuse. On en jugera par les observations suivantes :

Obs. III. — Le 8 octobre 1916, un cobaye est inoculé dans le cerveau avec un virus rabique ayant déjà passé 10 fois par le cobaye. Le 12 (4e jour), l'animal « glousse » et attire ainsi l'attention. Aucun autre symptôme. Le lendemain matin, l'état est stationnaire. Le soir, on remarque que le cobaye parcourt sa cage de façon légèrement anormale. Il a dispersé sa nourriture. Un peu d'accélération de la respiration et de hérissement des poils.

14 octobre (6e jour). L'animal continue à glousser et à s'agiter un peu dans sa cage, mais il n'a aucune tendance agressive à l'égard d'un cobaye qu'on lui a donné comme compagnon et cette agitation elle-même est très modérée. Brusquement, on le voit tomber sur le côté en proie à une vive dyspnée. Mort rapide en quelques minutes à 10 heures.

Obs. IV. — Le 21 septembre 1916, un cobaye est inoculé dans le cerveau avec un virus de rue ayant déjà passé 6 fois par le cobaye. Le 26 (5e jour) il commence à montrer une agitation un peu anormale. Il se promène dans sa cage avec inquiétude et en gloussant. Le lendemain (6e jour) l'état est à peu près stationnaire. Toutefois les poils sont hérissés et il y a de la dyspnée. L'agitation n'a pas augmenté ; l'animal arpente sa cage tranquillement, l'œil

(1) Nous devons signaler entre la rage expérimentale et le tétanos cette analogie que, dans un cas comme dans l'autre, la mort survient souvent, par arrêt du cœur sans doute, à la suite d'une excitation un peu vive, d'un mouvement spontané ou communiqué un peu violent. Pour la provoquer, il suffit parfois de saisir ou de déplacer le cobaye brusquement.

inquiet plutôt qu'excité. Aucune tendance agressive. Vers 10 heures, l'état s'aggrave rapidement. L'animal n'est plus agité. Il reste immobile dans un coin, le regard anxieux, en proie à une dyspnée très forte. A 12 heures, sans avoir eu de crise convulsive, sans avoir fait dans sa cage le moindre bond violent, il tombe sur le côté et fait pour se relever des efforts infructueux. Le tronc et les membres sont agités par des secousses qui diminuent d'amplitude en même temps que la respiration s'éteint. Mort à 16 heures.

Obs. V. — Le 10 décembre 1916, un cobaye est inoculé avec du virus de rue ayant déjà passé 20 fois par le cobaye. Le 15 (5e jour), l'animal a les poils hérissés; il arpente sa cage, ce qui ne lui est pas habituel. Il glousse et a l'œil légèrement allumé. Accélération de la respiration. L'après-midi, l'état est stationnaire. L'agitation n'a pas augmenté. On remarque toutefois que le cobaye n'a touché à sa nourriture que pour la répandre sur le sol de sa cage. Il continue à se promener assez tranquillement et n'a aucune tendance agressive. Dyspnée. A 17 heures, sans avoir fait de bonds violents ni eu de crise convulsive, il tombe sur le côté. Dès lors les mouvements respiratoires diminuent progressivement d'amplitude et l'animal est trouvé mort à 19 heures.

Forme dyspnéique.

Ces cas de rage, où l'excitation est si peu marquée qu'on ne peut sans quelque exagération les faire rentrer dans le cadre de la rage furieuse, conduisent par une pente insensible à d'autres cas où l'agitation est nulle, où le symptôme dominant est la dyspnée et où la symptomatologie simule à s'y méprendre celle d'une des nombreuses affections pulmonaires qui, si souvent, sévissent sur le cobaye à l'état épizootique.

Obs. VI. — Le 25 octobre 1916, on inocule un cobaye dans le cerveau avec un virus de rue ayant déjà passé 7 fois par le cobaye. Le 31 au matin (6e jour), l'animal est triste; il a les poils hérissés; il ne mange pas; sa respiration est très accélérée. Aucun autre symptôme. Il se tient immobile et apathique dans un coin de sa cage. Aucune paralysie. A 12 heures, le hérissement de poils et surtout la dyspnée ont beaucoup augmenté. Le regard est anxieux. L'animal ne répond nullement aux provocations. A 14 heures, dyspnée croissante. Le cobaye chancelle sur lui-même bien qu'il n'y ait aucune paralysie. A 15 heures, il tombe sur le côté. La respiration diminue peu à peu d'amplitude. Mort en une demi-heure.

A l'autopsie, on ne constate aucune lésion de l'appareil respiratoire. Un cobaye inoculé avec le bulbe a succombé au 6e jour à une rage paralytique classique.

Obs. VII. — Le 24 septembre 1916, on inocule avec un virus de rue ayant déjà passé 2 fois par le cobaye deux de ces animaux. Le premier, inoculé sous la dure-mère, succombe le 7e jour à la rage furieuse. Le second, inoculé dans la chambre antérieure, ne présente aucune particularité à noter jusqu'au 30 septembre (6e jour). A cette date, on remarque que l'œil inoculé a réagi;

il est rouge et larmoie. En même temps, l'animal est triste. Il demeure en boule dans son coin pendant que son congénère furieux parcourt la cage en tous sens.

Même état le 1er octobre. L'animal est toujours en boule et très tranquille. Le symptôme dominant est la dyspnée.

Le 2 octobre (8e jour), le cobaye ne présente toujours ni excitation, ni paralysie. Il ne quitte pas son coin où il larmoie en proie à une dyspnée croissante. Toutes les provocations le laissent indifférent. Vers midi, il se couche sur le côté et meurt en quelques minutes. A l'autopsie, les poumons sont sains. Passage positif au point de vue de la rage.

Dans ces cas, on le voit, la symptomatologie diffère, autant qu'il est possible, de celle de la rage classique et se rapproche au contraire de celle d'une maladie du poumon. Il faut le résultat négatif de l'autopsie au point de vue des lésions pulmonaires et le résultat positif des inoculations pour permettre d'affirmer que les animaux ont succombé à la rage et que celle-ci ne coexistait pas avec une autre affection.

Forme pseudo-septicémique.

Parfois la dyspnée est très atténuée et l'analogie plus grande avec une des septicémies du cobaye qu'avec une de ses broncho-pneumonies.

Obs. VIII. — Le 11 décembre 1916, un cobaye est inoculé dans le cerveau avec le bulbe d'un de ses congénères qui, ayant reçu sous la dure-mère et dans les muscles de la nuque la rate d'un cobaye rabique, venait de succomber lui-même à une rage bien caractérisée. Le 16 décembre (5e jour) l'animal présente du hérissement des poils, une légère dyspnée, une perte complète de l'appétit et surtout une profonde apathie. Il est blotti dans un coin de sa cage tout à fait indifférent à ce qui l'entoure. On peut le prendre à la main, le renverser au moyen d'un bâton sans qu'il manifeste le moindre mécontentement. On éprouve quelque difficulté à le faire changer de place. Si on le contraint à se déplacer, on constate, sans qu'il y ait la moindre paralysie localisée, une légère incertitude de la démarche. Le soir, l'animal montre toujours le même calme, la même indifférence. Il est trouvé mort le 17 au matin (16e jour). A l'autopsie, on ne trouve aucune lésion d'organes. Ensemencement du sang négatif. Passage positif au point de vue de la rage.

Obs. IX. — Le 18 décembre 1916, un cobaye est inoculé dans le cerveau avec un virus de rue provenant d'un seizième passage. Le 23 au matin (5e jour) les poils sont hérissés; l'animal ne mange pas; il se tient immobile dans un coin de sa cage, indifférent à ce qui l'entoure et à toutes les provocations. Il ne se déplace que si on l'y contraint et on ne constate alors aucune paralysie. Respiration légèrement accélérée. Le soir, l'état est stationnaire; on ne relève pas d'autre symptôme que la tristesse, l'inappétence, le hérissement des poils et une dyspnée très modérée. Le lendemain matin

(6e jour), l'animal est trouvé couché sur le côté, le corps et les membres agités de légers soubresauts. Il agonise ainsi jusqu'à dix heures et meurt par arrêt progressif de la respiration. A l'autopsie, on ne constate aucune lésion d'organes. Ensemencement négatif. Passages au point de vue de la rage positifs.

Forme spasmodique.

Nous désignons sous ce terme une forme très spéciale que nous avons observée surtout — mais non exclusivement — à la suite d'inoculations dans la chambre antérieure et qui est tout particulièrement intéressante en raison de la grande analogie de symptômes qu'elle présente avec une des formes les plus communes de la rage humaine. Chez l'animal inoculé dans l'œil, la maladie débute par une violente réaction locale de tous points comparable à la réaction des cicatrices de morsures bien connue chez l'homme (1). Cette réaction se traduit à la fois par des symptômes objectifs et subjectifs. L'œil larmoie; la conjonctive est injectée et suppure; les paupières sont rouges et tuméfiées. Les lésions sont le siège d'un prurit intense. L'animal les gratte furieusement avec sa patte. C'est souvent là le symptôme initial de la maladie. Il permet de prédire à coup sûr l'apparition imminente de la rage. Presque simultanément, l'animal attire l'attention par une sorte de ronchus, gros, gras, sonore, assez comparable au cri guttural de certains batraciens. L'examen permet facilement de se rendre compte que ce bruit très particulier se passe dans le pharynx et qu'il est lié à une difficulté de la déglutition, provoquée elle-même par un spasme de l'organe. Il est possible en effet de voir ce spasme se dessiner sous les poils de la région antérieure du cou, comme aussi de surprendre l'animal en train de porter à sa gorge ses deux pattes de devant, dans l'espoir évident d'aider au transit de quelque chose qui ne veut pas passer. Enfin il n'est pas rare que le ronchus soit suivi de

(1) On sait que, chez l'homme, quelques jours avant l'éclosion de la maladie, les cicatrices parfois se tuméfient, deviennent prurigineuses ou même douloureuses. De même, chez les personnes mordues au nez, la rage débute par des hallucinations olfactives (Roux), des éternuements (Gamaleia); chez les personnes mordues à l'œil par des troubles visuels..., etc. Chez les ruminants et surtout chez le cheval, on observe également et très fréquemment, au cours de la rage, un prurit extrêmement violent dans la région des morsures.

l'expulsion d'un peu de salive ou de mucus. Ce spasme pharyngé paraît ainsi pleinement l'homologue du spasme hydrophobique de la rage humaine. En même temps, l'animal est triste; ses poils se hérissent; il présente de la dyspnée. Immobile dans un coin de sa cage, il ne se déplace pas volontiers et on constate parfois, si on le contraint à se mouvoir, une hésitation de la démarche qui trahit un certain degré de parésie.

Bientôt l'état du cobaye s'aggrave et de violentes crises convulsives se produisent. Celles-ci débutent par le cri guttural plus haut décrit puis, au lieu de demeurer localisé, le spasme pharyngé se généralise à tout le corps. L'animal jeté à terre par la secousse se tord sur lui-même en arc de cercle et pousse de petits cris plaintifs. Après quelques secondes, il se relève, se remet d'aplomb sur ses pattes et demeure tranquille jusqu'à ce que de nouvelles convulsions se produisent. Des excitations sensorielles un peu vives telles que le contact de l'eau, un attouchement brusque, le chatouillement de l'œil inoculé..., etc. amènent presque fatalement la réapparition de celles-ci. Les crises finissent par devenir subintrantes. Tombé sur le côté au cours de l'une d'elles, le cobaye finit par ne plus pouvoir se relever. Le tronc et les membres sont agités de soubresauts continus; la respiration s'éteint peu à peu et la mort ne tarde pas à se produire. Il arrive aussi qu'elle survienne brusquement au cours d'une crise (1).

Obs. X. — Le 18 septembre 1916, deux passages sont faits avec un virus de rue ayant déjà passé une fois par le cobaye. Un premier animal inoculé dans le cerveau présente, le 23 (5e jour), tous les symptômes de la rage furieuse et meurt le 24. Un deuxième inoculé dans la chambre antérieure paraît suspect le 25 (7e jour). Il est triste, ne mange pas et montre un peu de dyspnée. Le lendemain, il est manifestement pris. Il se tient en boule dans un coin de sa cage, les poils hérissés et sales. L'œil inoculé est rouge et tuméfié; l'animal le frotte vigoureusement avec sa patte. De temps à autre, il fait entendre un gros ronchus, assez comparable au « couac » du crapaud. Tantôt ce ronchus est isolé; tantôt il est immédiatement suivi d'une violente crise convulsive. L'animal est jeté à terre par une convulsion de tout le corps qui le recourbe sur lui-même en arc de cercle et au cours de laquelle il porte convulsivement à son cou ses deux pattes antérieures, comme pour aider à la déglutition de quelque chose qui ne veut pas passer. Après quelques secondes, il se relève ayant à la bouche un peu de bave malpropre et se remet d'aplomb. Dans l'intervalle des crises, il n'est ni agité, ni para-

(1) Il y a là une nouvelle analogie avec la rage humaine, dans laquelle la mort subite, au cours d'une crise convulsive, n'est point rare.

lytique. Il se tient très tranquille, ne manifestant aucune tendance agressive. D'autre part, si on le force à se déplacer, il progresse à peu près normalement. Dyspnée assez violente. A 15 heures, on trouve l'animal couché sur le dos, les quatre membres agités de soubresauts. Il n'arrive pas à se relever. Peu à peu la respiration s'éteint. Mort à 16 heures.

Obs. XI. — Le 20 septembre 1916, un virus de rue ayant déjà passé 3 fois par le cerveau du cobaye est inoculé à un premier animal sous la dure-mère et à un second dans la chambre antérieure droite. Le premier cobaye succombe le 26 (6e jour), à une rage furieuse classique. Quant au second, le 26 septembre également, on remarque qu'il est triste, que ses poils sont hérissés, que sa conjonctive est fortement vascularisée et qu'il tient la tête penchée à droite. Le 27 (7e jour), l'animal est manifestement pris. Il est en boule dans un coin de sa cage, dyspnéique mais très calme, nullement furieux, ni paralysé. Tout à coup, il pousse une sorte de « couac » et une violente crise convulsive éclate au cours de laquelle il tombe sur le côté totalement incurvé sur lui-même, la tête au contact du train postérieur. Après quelques secondes, il se relève et se remet d'aplomb. Le point de départ de ces accidents convulsifs paraît être le pharynx, car, au milieu de la crise, l'animal porte ses pattes sur le devant du cou comme pour aider à la progression d'un corps étranger. En même temps, un peu de bave sale apparaît au museau. Après une dizaine de minutes de tranquillité, une nouvelle crise se produit de tous points semblable à la précédente. On remarque que les bruits aigus, que les attouchements déclenchent ces convulsions à peu près fatalement. Souvent aussi elles se produisent spontanément.

28 septembre, 7 heures. L'animal se tient toujours bien d'aplomb sur ses membres. La tête est souillée par de la bave. La dyspnée est plus forte. L'inflammation de l'œil droit a beaucoup augmenté; les paupières sont tuméfiées et, à plusieurs reprises, on voit le cobaye se gratter furieusement la région. Les crises persistent avec les mêmes caractères que la veille. Vers 10 heures, l'animal s'affaiblit et il ne se relève plus qu'avec peine. Les crises sont presque subintrantes. Tombé sur le côté à 10 h. 30 il est dans l'impossibilité de se relever. Des crises de contorsions se produisent encore, l'animal étant couché, puis la respiration diminue graduellement d'amplitude. Mort à 10 h. 45.

Obs. XII. — Le 21 septembre 1916, un cobaye est inoculé dans la chambre antérieure avec un virus de rue provenant d'un sixième passage. Le 28 (7e jour), on constate que l'œil inoculé est rouge et tuméfié et, à trois reprises, l'animal est surpris le frottant avec sa patte. Le 29 (8e jour), la réaction de l'œil a beaucoup augmenté. Les paupières sont rouges et tuméfiées. Non seulement le cobaye les gratte avec sa patte, mais encore il frotte tout le côté droit de sa tête contre les barreaux de sa cage. De temps à autre, il fait entendre une sorte de » couac » pharyngé qui n'est pas suivi de crise convulsive, mais on provoque une ébauche de contorsions en versant de l'eau sur la tête. Dyspnée. L'état se maintient stationnaire pendant toute la journée.

30 septembre (9e jour). Aggravation manifeste. L'inflammation des paupières a gagné tout le côté droit de la tête et s'étend jusqu'à la nuque. Il semble que des lésions de grattage soient venues se surajouter à l'inflammation réactionnelle. L'animal est sujet aujourd'hui à des crises de contorsions violentes qui débutent tantôt par un « couac » pharyngé, tantôt

par un petit cri plaintif. On les provoque à volonté en saisissant le cobaye avec brusquerie. A 16 heures, on trouve celui-ci couché sur le côté, les membres agités de petits soubresauts. Mort dans la nuit.

Obs. XIII. — Le 6 septembre 1916, un cobaye a été inoculé avec un virus de rue provenant d'un quatrième passage. Le 15 (9e jour), l'animal est un peu inquiet. Il se tient tristement dans un coin de sa cage, les poils hérissés, et ne mange pas. L'état paraît stationnaire le 16 au matin, mais le soir le cobaye a de la dyspnée; il pousse de petits cris plaintifs et gratte, avec sa patte, le moignon oculaire qui a manifestement réagi. Il est très tranquille et se tient d'aplomb sur ses quatre pattes. Cependant, si on le renverse, il éprouve de grandes difficultés à se relever.

Le 17 au matin (11e jour), l'état a empiré. La dyspnée est vive et l'animal pousse des cris plaintifs interrompus de temps à autre par un gros ronchus, sorte de croassement parti du pharynx et qui est souvent le symptôme initial d'une crise convulsive généralisée. Le museau est souillé par une bave malpropre. La réaction du moignon oculaire a augmenté et le prurit est toujours très marqué. Le cobaye a, comme la veille, de grandes difficultés à se relever une fois qu'il est à terre. La tête est légèrement tombante comme s'il y avait de la parésie des muscles de la nuque. A 18 heures, tombé sur le côté au cours d'une crise, l'animal ne peut plus se relever. Il reste étendu, les membres agités de secousses, puis la respiration s'éteint peu à peu. Mort à 19 heures (11e jour).

Obs. XIV. — Le 30 août 1916, un cobaye est inoculé dans la chambre antérieure avec un virus de rue provenant d'un quatrième passage. Le 6 septembre (7e jour), l'œil inoculé est très rouge et larmoie. Le lendemain, le cobaye est manifestement pris. Il est triste, a les poils hérissés et une vive dyspnée. De temps à autre, il pousse une plainte rauque, comparable à un croassement de grenouille et qui paraît venir du fond du pharynx. Tantôt le cri est isolé, tantôt il marque le début d'une crise convulsive au cours de laquelle l'animal tombe sur le côté, en proie à une violente contorsion de tout son corps. On le voit, au cours de ces crises, chercher à atteindre, avec la patte correspondante, l'œil inoculé et le gratter vigoureusement. Dans l'intervalle des crises, l'animal est très tranquille; il n'est ni agité, ni paralysé et se borne à pousser de petits cris plaintifs. Il est trouvé mort le 6 septembre au matin (9e jour).

Cette forme de rage — dont les analogies avec la modalité la plus commune de la rage humaine sont, on le voit, assez frappantes — diffère de la rage furieuse en ce que le cobaye, très tranquille, apathique même en dehors des crises, ne s'agite nullement dans sa cage, ne dissémine pas sa nourriture en tous sens, ne « glousse » pas, ne mord pas et n'a aucune velléité agressive à l'égard de ses congénères. Elle diffère d'autre part de la rage paralytique par l'absence complète de paralysie localisée. Seule, une légère hésitation de la démarche trahit parfois un peu de faiblesse de l'appareil locomoteur. Le symptôme

essentiel paraît être — tout comme chez l'homme — le spasme du pharynx. D'où le terme de : Rage spasmodique, que nous proposons d'adopter.

Formes foudroyantes.

Peut-être a-t-on été frappé, au cours des observations qui précèdent, du peu de durée de la rage déclarée chez le cobaye. Entre l'apparition des premiers symptômes de la maladie et la mort, il est rare qu'il s'écoule plus de 48 heures. En général, la durée totale de l'affection est de 24 à 36 heures. Elle est quelquefois beaucoup moins considérable. Il n'est pas rare qu'un cobaye, parfaitement portant un soir, soit trouvé mort le lendemain matin à la première heure sans, par conséquent, qu'il ait été possible de déterminer à quelle forme de rage il a succombé. Et cependant, c'est bien la rage qui a amené la mort et qui l'a amenée seule, puisque l'autopsie ne montre aucune lésion des organes, que les ensemencements du sang et des viscères demeurent stériles et que seuls les passages fournissent un résultat positif.

Obs. XV. — Le 6 septembre, un cobaye est inoculé sous la dure-mère avec un virus de rue ayant déjà passé quatre fois par le cobaye. Le 12 septembre au soir (6e jour), il est parfaitement portant et ne présente pas le moindre symptôme d'excitation ou de paralysie. Le 13 au matin (7e jour), il est trouvé mort. L'autopsie ne montre aucune lésion des organes. Ensemencement du sang négatif. Passages positifs au point de vue de la rage.

Obs. XVI. — Le 8 septembre, un cobaye est inoculé sous la dure-mère avec un virus de rue ayant déjà passé huit fois par le cobaye. L'animal, parfaitement portant le 13 septembre au soir (5e jour), est trouvé mort le 14 au matin. L'autopsie ne montre aucune lésion des organes. Passages positifs au point de vue de la rage.

Obs. XVII. — Le 13 septembre, on inocule deux cobayes dans le cerveau avec un virus de rue ayant déjà passé 7 fois par le cobaye. L'un de ces animaux présente le 20 septembre (7e jour), sous une forme atténuée, les signes classiques de la rage furieuse et meurt le 21 (8e jour). Le second ne montre le 20 aucun symptôme suspect. C'est tout au plus si, le soir, il paraît se promener dans sa cage de façon un peu anormale. Il est trouvé mort le 21 au matin. Autopsie négative au point de vue de l'existence d'une maladie autre que la rage. Passages positifs.

Obs. XVIII. — Le 1er octobre, un cobaye est inoculé sous la dure-mère avec le bulbe d'un autre cobaye qui a succombé le 5e jour à une rage furieuse très caractéristique. Le 6 octobre (5e jour), il ne présente aucun symptôme

suspect et le soir en particulier il paraît tout à fait bien portant. Le lendemain 7 octobre (6e jour), il est trouvé mort. Autopsie négative au point de vue de l'existence d'une maladie autre que la rage. Deux cobayes inoculés sous la dure-mère avec une parcelle du bulbe succombent le 5e jour à une rage furieuse très violente.

Dans les observations qui précèdent et qu'il nous serait extrêmement facile de multiplier, les cobayes étaient examinés le soir vers 19 heures et c'est le lendemain vers 7 heures, soit 12 heures plus tard, qu'ils étaient trouvés morts. Ce laps de temps étant encore assez considérable, on peut supposer que la rage avait eu le temps d'évoluer au cours de la nuit et par conséquent que la mort était moins rapide en réalité qu'on ne serait tenté de le croire de prime abord. Les observations suivantes, où le cobaye a été trouvé mort au cours même de la journée, sont de nature à faire supposer que la durée de la maladie peut, en tout cas, être extrêmement réduite.

Obs. XIX. — Le 2 octobre, un cobaye est inoculé dans le cerveau avec un virus ayant déjà passé 6 fois par le cobaye et ayant amené la mort du dernier animal en 6 jours à la suite d'une rage furieuse bien caractérisée. Le 7 octobre (5e jour), on ne note aucune particularité dans la façon d'être de l'animal. De même le lendemain (6e jour), à 7 et à 9 heures du matin, il paraît tout à fait normal; 2 heures plus tard, il est trouvé mort le corps déjà raidi et froid. La nourriture, qui, à 9 heures, était disposée en bon ordre dans un ratelier (herbage) et dans une mangeoire (orge), jonche en désordre le sol de la cage, ce qui fait supposer qu'il a succombé au cours d'une crise furieuse. Passages positifs.

Obs. XX. — Le 20 octobre, un cobaye est inoculé sous la dure-mère avec un virus de rue provenant d'un sixième passage par le cobaye et ayant amené la mort du dernier animal en 7 jours, à la suite d'une rage furieuse à symptomatologie atténuée. Le 26 octobre (6e jour) au matin, l'animal se porte tout à fait bien. On le revoit à 10 heures, à 11 heures et il n'attire l'attention par aucun symptôme. Aussi est-on très surpris, à 14 heures, de le trouver mort et déjà en état de rigidité cadavérique. Aucune lésion à l'autopsie. Un cobaye et un lapin sont inoculés avec le bulbe. Le cobaye est trouvé mort le matin du 9e jour alors que, la veille, il n'avait présenté aucun symptôme suspect. Le lapin succombe le 10e jour à une rage paralytique tout à fait classique.

Obs. XXI. — Le 27 novembre 1916, un cobaye est inoculé sous la dure-mère avec un virus de rue ayant déjà passé 11 fois par le cobaye et ayant amené la mort du dernier animal en 7 jours. Le 3 décembre (6e jour) au matin, il paraît tout à fait bien portant. Au cours de la journée, il est revu à différentes reprises et il n'attire l'attention par aucun symptôme. Il est trouvé mort à 17 heures sans qu'à aucun moment il ait été observé rien d'anormal. L'autopsie ne montre aucune particularité digne d'être notée. Un cobaye inoculé sous la dure-mère avec le bulbe a succombé le 7e jour à une rage

dyspnéique, puis la maladie a été transmise de cobaye à cobaye jusqu'au 50e passage (1).

Obs. XXII. — Le 3 janvier 1917, la rate d'un cobaye ayant succombé à un 21e passage est broyée finement et inoculée à la fois sous la dure-mère et dans les muscles de la nuque d'un autre cobaye. Le 14 janvier au matin (16e jour), celui-ci est tout à fait bien portant. On le revoit à différentes reprises au cours de la journée et pour la dernière fois à 14 heures. Il n'attire l'attention par aucun symptôme. Aussi est-on très surpris, à 16 heures, de le trouver mort et déjà froid. L'autopsie est complètement négative au point de vue d'une lésion des organes. Ensemencements du sang négatifs. Le bulbe est inoculé sous la dure-mère d'un lapin qui, pris le 7e jour, succombe le 10e à une rage paralytique classique.

Nous ne croyons pas que, dans les observations qui précèdent, la mort ait été à proprement parler « subite ». Nous sommes plutôt d'avis — et l'observation XIX vient à l'appui de cette opinion — que la durée des manifestations cliniques, manifestations qui peuvent être réduites à une seule crise furieuse, peut être tellement courte qu'elle passe inaperçue chez des animaux examinés seulement, ainsi qu'il arrive dans la plupart des laboratoires, toutes les 3 ou 4 heures. Pour élucider complètement le mécanisme de la mort dans ces cas, il faudrait littéralement vivre avec ses cobayes et avoir au milieu d'eux sa table de travail, ce qui n'est pas possible dans toutes les installations. Une conséquence à tirer de ces faits c'est que tout cobaye qui, après avoir été inoculé avec du virus rabique, ou un produit soupçonné de renfermer du virus rabique, succombe un temps plus ou moins long après cette inoculation sans avoir montré de symptômes caractéristiques ou même est trouvé mort, le matin ou au cours de la journée, sans avoir présenté de symptômes d'aucune sorte, doit être tenu pour suspect; son autopsie doit être pratiquée; on pourra rechercher dans sa corne d'Ammon les corpuscules de Negri;

(1) Ces passages de cerveau à cerveau s'effectuent en général chez le cobaye sans le moindre incident. Deux fois seulement, alors que les inoculations avaient porté sur de très jeunes animaux, ceux-ci ont été, le lendemain matin, trouvés morts. Comme les virus n'avaient pas été — ce qui est une imprudence — conservés en glycérine, nous avons prélevé chez les deux cadavres une parcelle de la matière cérébrale autour du point inoculé et injecté celle-ci sous la dure-mère de deux autres cobayes. Ceux-ci ont pris la rage avec un jour de retard seulement sur les précédents, après quoi la maladie a été transmise de cobaye à cobaye, comme si rien ne s'était passé.

en tout cas, son bulbe devra servir à faire des passages et ceux-ci ne manqueront pas, dans un grand nombre de cas, d'établir que l'animal a succombé à la rage.

Formes paralytiques.

Chez le cobaye, inoculé avec du virus de rue, la rage se présente fréquemment sous la forme paralytique. Sous l'influence de facteurs que nous verrons plus loin, la paralysie peut elle-même revêtir plusieurs modalités. Souvent, elle est du type flasque ainsi qu'en témoignent les observations suivantes :

Obs. XXIII. — Le 19 décembre 1916, un jeune cobaye est inoculé dans le cerveau avec un virus de rue ayant déjà passé 23 fois par le cobaye et ayant toujours jusqu'alors déterminé une rage furieuse plus ou moins violente. Le 24 décembre (5e jour), la tristesse de l'animal, l'inappétence, le hérissement des poils montrent qu'il est pris. Il ne présente d'agitation d'excitation d'aucune sorte. Au contraire, la démarche est incertaine ébrieuse. Il n'y a pas de paralysie localisée et les membres antérieurs paraissent faibles au même titre que les membres postérieurs. Dyspnée.

Le soir, la paralysie s'est beaucoup accentuée; l'animal peut à peine se tenir debout et il chancelle si on le force à marcher. Il n'existe d'agitation d'aucune sorte. Il s'agit d'une forme paralytique, pure de tout mélange.

Le 25 décembre au matin, le cobaye est couché sur le côté, complètement paralysé et agonisant. Mort dans la journée. Un cobaye inoculé dans le cerveau avec le bulbe a succombé au 7e jour à une rage également paralytique.

Obs. XXIV. — Le 18 novembre 1916, un cobaye est inoculé dans le cerveau avec un virus de rue ayant déjà passé onze fois par le cobaye et ayant presque toujours jusqu'alors déterminé la rage furieuse.

Le 23 novembre, au 5e jour, l'animal ne mange pas et a les poils hérissés. La démarche est incertaine, vacillante. Accélération de la respiration. Aucun symptôme d'excitation. L'après-midi, les quatre membres sont paralysés sans que cette paralysie paraisse prédominer aux membres antérieurs ou postérieurs. L'animal se tient, tant bien que mal, sur ses quatre pattes mais, si on le renverse, il est dans l'impossibilité de se relever. Il n'existe toujours aucun phénomène d'excitation et la rage paralytique est pure de tout mélange. Le 24 novembre au matin (6e jour), l'animal est trouvé mort. Un passage avec le bulbe a déterminé une forme mixte, mi-furieuse, mi-paralytique. Mort au 6e jour.

Obs. XXV. — Le 21 août 1916, un cobaye est inoculé dans la chambre antérieure avec le bulbe d'un chien qui a succombé aux symptômes classiques de la rage paralytique. Le 4 septembre (14e jour), l'animal est triste et ne mange pas. Il demeure dans un coin de la cage, les poils hérissés et la tête tombante, attitude qui paraît due à une parésie des muscles de la nuque. Il

n'existe d'agitation, d'excitation d'aucune sorte. Un peu d'accélération de la respiration. Aucun autre symptôme.

Le lendemain (15e jour), l'état du cobaye a beaucoup empiré. La tête tombe au point de venir au contact du plancher de la cage, les muscles de la nuque étant totalement impuissants à la maintenir. Les membres postérieurs sont également paralysés et l'animal, qui se tient debout avec de grandes difficultés, peut à peine faire quelques pas. Dyspnée. Les membres antérieurs paraissent indemnes.

A 12 heures, l'animal est trouvé mort, les membres postérieurs écartelés « en crapaudine » par la rigidité cadavérique.

Ce cobaye a été le point de départ d'une série d'inoculations qui ont été poursuivies jusqu'au 50e passage.

Obs. XXVI. — Le 21 août, un cobaye est inoculé dans la chambre antérieure avec un virus de rue ayant déjà passé trois fois par le cobaye. Le 11 septembre au matin (21e jour), l'animal est franchement paralysé. Les membres postérieurs, tout en demeurant flasques, sont écartelés « en crapaudine ». Ils refusent tout service et le cobaye, qui se déplace facilement à l'aide de ses membres antérieurs, les traîne à sa suite comme un boulet. L'animal, à part cela, a conservé sa physionomie habituelle et il s'alimente comme de coutume. Le lendemain 12 septembre (22e jour), l'état paraît stationnaire. La paralysie persiste avec les mêmes caractères.

13 septembre (23e jour). Le matin, les membres antérieurs sont pris. Le cobaye se tient couché sur le ventre, immobile. Il continue à avoir le regard vif et à manger. Le soir, les muscles de la nuque se prennent à leur tour. Ils ne peuvent plus supporter la tête, qui demeure appuyée sur le sol de la cage. Dyspnée. L'état s'aggrave rapidement. L'animal est trouvé mort le 14 septembre au matin (34e jour).

Obs. XXVII. — Le 3 août 1916, un cobaye est inoculé sous la dure-mère avec un virus de rue ayant déjà passé une fois par le cobaye.

Le 21 août (18e jour), l'animal est trouvé immobile dans un coin de sa cage, les poils hérissés et la tête tombante. Il ne quitte pas sa place volontiers. Si on le force à se mouvoir, il ne progresse qu'avec de grandes difficultés. Il s'appuie normalement sur les pattes de derrière. C'est le train antérieur qui paraît paralysé au même titre que les muscles de la nuque. Il n'y a de symptômes d'excitation d'aucune sorte. La rage paralytique est pure de tout mélange. Le soir, légère parésie du train postérieur. L'animal se tient difficilement debout. Il est trouvé mort le 22 au matin (19e jour). Son bulbe est le point de départ d'une série d'inoculations, qui ont été poursuivies jusqu'au 50e passage.

La rage paralytique à virus de rue peut également se présenter chez le cobaye sous une forme avec contracture qui, très différente de la précédente, montre au contraire de grandes analogies avec le tétanos.

Obs. XXVIII. — Le 11 novembre 1916, un cobaye a été inoculé sous la peau de la plante du pied avec un virus de rue ayant déjà passé 17 fois par le cobaye.

Le 20 novembre au matin (9e jour), le membre postérieur droit tout entier est contracturé en extension et le cobaye, en marchant, le traîne à sa suite comme un boulet. Le membre postérieur gauche, les membres antérieurs sont sains. L'animal a conservé son appétit ainsi que son habitus ordinaires. Il paraît très peu incommodé par cette paralysie localisée et ne présente aucun symptôme de dépression, ni d'excitation. A cette paralysie près, il va et vient dans sa cage comme si de rien n'était.

Le 21 novembre, la paralysie a gagné le membre postérieur gauche. C'est maintenant tout l'arrière-train en extension forcée que l'animal traîne à sa suite quand il se déplace. Aucune particularité au niveau des muscles du thorax, du train antérieur ainsi que des muscles de la nuque. L'animal continue de manger et il a conservé sa physionomie habituelle. Le soir, on note seulement un peu d'accélération de la respiration. Il est trouvé mort le 22 novembre au matin (11e jour).

Obs. XXVIII. — Le 7 décembre 1916, un cobaye a reçu dans les muscles de la cuisse droite un demi-centimètre cube d'une émulsion centésimale de virus de rue ayant, plusieurs fois déjà, passé par le cobaye. Le 15 décembre (8e jour), le membre postérieur droit tout entier apparaît en état de raideur tétanique et le malade le traîne à sa suite comme s'il était mort. Il paraît du reste peu gêné par cette infirmité et il progresse aisément grâce à son membre postérieur gauche et à ses membres antérieurs, qui demeurent tout à fait sains. L'animal lui-même paraît encore du reste très bien portant. Il a sa physionomie habituelle et bon appétit. Aucune agitation. Tout ce qui n'est pas le membre postérieur droit paraît indemne.

Le 16 décembre, la maladie a gagné le membre postérieur gauche. Le train postérieur tout entier, maintenu en état d'extension forcée, est traîné à la suite de l'animal qui n'en paraît pas du reste autrement incommodé. Il a son habitus ordinaire et continue de manger. C'est le soir seulement que, très rapidement, la maladie gagne le membre antérieur et les muscles de la nuque. L'animal ne peut plus se tenir debout. Il tombe sur le côté et ne peut plus se relever. Dyspnée vive. Bientôt la respiration diminue d'amplitude et la mort se produit à 19 heures.

Obs. XXX. — Le 4 juillet 1916, on inocule, dans les muscles de la cuisse d'un cobaye, 3 cent. cubes d'émulsion d'un bulbe de chien ayant présenté les principaux symptômes de la rage furieuse.

Le 31 juillet au matin (27e jour), l'animal n'attire l'attention par aucun symptôme. Il va et vient dans sa cage comme de coutume. 4 heures plus tard, on le trouve avec le train postérieur complètement paralysé et contracturé en extension. Il le traîne péniblement à sa suite au cours de ses déplacements. Cette paralysie a donc apparu avec une grande brusquerie. Aucun autre symptôme morbide. Appétit conservé.

Le 1er août, la paralysie s'est étendue et a gagné les membres antérieurs. L'animal demeure couché sur le ventre. Accélération de la respiration. Le soir, on le trouve étendu sur le côté, en proie à une violente dyspnée et poussant de temps à autre de petits cris plaintifs.

Le 2 août au matin, l'état est sensiblement identique. L'animal agonise toute la journée et ne meurt que le soir (25e jour). Son bulbe est inoculé à un cobaye, qui succombe le 13e jour à une forme mi-paralytique, mi-furieuse. La maladie a été ensuite reproduite en séries.

Obs. XXXI. — Le 15 août 1916, un cobaye est inoculé dans les muscles de la cuisse avec 1 cent. cube d'une émulsion centésimale de virus de rue, ayant passé une fois déjà par le cobaye.

Le 27 août (12e jour), l'animal est vu, dès le matin, traînant à sa suite son membre postérieur droit contracturé en extension forcée, absolument comme s'il avait reçu de la toxine tétanique. Le soir, il ne s'est manifesté aucun changement. La paralysie est encore strictement localisée au membre postérieur droit et le cobaye, très bien portant par ailleurs, va et vient dans sa cage sur ses trois autres pattes. Aucun phénomène d'excitation.

Le 28 août (13e jour), le membre postérieur gauche est pris ; l'animal traîne après lui tout son arrière-train écartelé « en crapaudine ». Mais, le train antérieur n'ayant rien, il continue de se déplacer facilement dans sa cage. Le soir, la paralysie remonte nettement jusqu'au thorax. Les membres antérieurs sont toujours indemnes.

Le 29 août. — Les membres postérieurs sont, comme hier, écartelés en crapaudine. Les membres antérieurs ont pris la même attitude. L'animal est étendu sur le ventre, la face antérieure du thorax et de l'abdomen en contact direct avec le plancher de la cage. Intégrité des muscles de la nuque. Il est moins gai et refuse toute nourriture, L'après-midi, on le trouve étendu sur le côté. Dyspnée.

30 août. — Agonie. Mort dans la soirée.

En résumé, si l'on en excepte les paralysies terminales et les cas assez nombreux de rage mixte (mi-furieuse, mi-paralytique), la rage paralytique déterminée chez le cobaye par le virus de rue se présente — en rapport avec le mode d'inoculation employé — sous deux formes, une forme flasque et une forme avec contracture.

La forme flasque, telle qu'elle s'observe à la suite des inoculations craniennes, oculaires, sanguines, viscérales, etc., peut réaliser de façon parfaite le type ascendant aigu ou de Landry (1).

D'autres fois, elle se traduit par les symptômes habituels aux autres formes de rage : tristesse, hérissement des poils, inappétence, dyspnée et, simultanément, par une paralysie d'emblée, localisée aux quatre membres, d'où démarche vacillante, ébrieuse, difficulté ou impossibilité pour le cobaye de se relever si l'on vient à le renverser..., etc. Il existe souvent

(1) Sans que nous connaissions bien les motifs de cette prédilection, la rage paraît affectionner de façon toute particulière la paralysie ascendante aiguë. Expérimentalement, celle-ci s'observe chez la plupart des animaux. En clinique, on la retrouve chez l'homme et chez le chien. Les paralysies du traitement antirabique suivent très souvent elles aussi une marche ascendante. Chez l'homme, le syndrome de Landry doit immédiatement faire penser à la rage. On interrogera donc le malade à ce point de vue spécial. A l'autopsie, un fragment de la corne d'Ammon sera prélevé pour la recherche des corpuscules de Negri et une parcelle du bulbe sera inoculée par trépanation à un lapin et à un cobaye.

alors, au début de la maladie, une localisation des phénomènes paralytiques au niveau du train antérieur, du train postérieur ou de la nuque, mais pas plus que la paralysie qui est incomplète cette localisation n'est absolue: elle doit être considérée plutôt comme un renforcement des phénomènes parétiques dans les régions considérées. La paralysie ne tarde pas à se généraliser, à s'intensifier, puis, rapidement, l'animal tombe sur le côté, entre en agonie et succombe.

Très différente de la précédente est la rage paralytique qui succède à l'inoculation du virus rabique sous la peau ou dans les muscles d'un membre. Tout comme le tétanos, elle débute brusquement par une paralysie avec contracture du membre inoculé. Le cobaye traîne son membre derrière lui comme un boulet et c'est, pendant vingt-quatre heures environ, le seul symptôme de la maladie. On n'observe ni tristesse, ni inappétence, ni hérissement des poils. L'animal a sa physionomie habituelle; il mange comme si de rien n'était, va et vient dans sa cage et ne paraît pas se soucier de ce qui lui arrive. Cependant, la paralysie gagne le côté opposé, puis suit sa marche ascendante. Les muscles de la nuque se prennent, la dyspnée se déclare et l'animal, tombé sur le côté, ne tarde pas à mourir. La durée de la maladie déclarée est toutefois plus longue dans cette forme que dans la précédente.

Rage a virus fixe.

En opposition avec la rage causée par le virus de rue, la rage déterminée par le virus fixe a une symptomatologie très uniforme. C'est exclusivement la rage paralytique. A peine note-t-on, de temps à autre avant que la paralysie n'apparaisse ou au début de son installation, quelques phénomènes d'excitation.

Inoculé au niveau d'un membre, soit sous la peau, soit dans les muscles, le virus fixe détermine tout d'abord une paralysie localisée, avec contractures, du type tétanique, puis une rage ascendante qui ne diffère en rien de celle que nous avons étudiée à propos du virus de rue.

S'il a été inoculé dans le cerveau ou dans l'œil, le cobaye tombe malade brusquement. La paralysie, d'emblée géné-

ralisée, se traduit tout d'abord par une incertitude de la démarche qui, très rapidement, devient une paralysie véritable. Éprouvant les plus grandes difficultés à se tenir debout, puis bientôt dans l'impossibilité absolue de le faire, le cobaye finalement tombe sur le côté. La dyspnée est vive. Les membres sont ébranlés par des soubresauts tendineux. Respiration et tremblement diminuent progressivement d'amplitude. La mort se produit deux à trois jours après le début des accidents (1). L'observation suivante peut être donnée comme type de cette forme de rage à virus fixe.

Obs. XXXII. — Le 6 octobre 1916, un cobaye est inoculé sous la dure-mère avec un virus fixe provenant d'un 1.100e passage environ par l'organisme du lapin et ayant ensuite passé trois fois par le cobaye. Le 12 octobre (6e jour), l'animal cesse de manger. Sa démarche est ébrieuse, incertaine. L'hésitation paraît porter à la fois sur les membres antérieurs et postérieurs, mais elle est plus marquée au niveau de ces derniers. Le 13 (7e jour), l'animal est franchement et complètement paralysé. On le trouve, le matin, couché sur le côté en proie à une vive dyspnée. Il arrive, quoique avec beaucoup de peine, à se relever si on le force à le faire. L'après-midi, cela lui est impossible. Soubresauts dans les membres. Cris plaintifs de temps à autre. Dyspnée intense. Trouvé mort le 14 (8e jour).

Ainsi que nous venons de le mentionner, le virus fixe dont nous nous sommes servi pour nos expériences était celui que nous employions pour le traitement antirabique et qui, provenant de l'Institut Pasteur de Paris, correspondait environ à un 1.100e passage. Les lapins trépanés avec lui étaient pris le 7e ou le 8e jour et succombaient le 11e ou le 12e. Lors du premier passage, les cobayes inoculés sous la dure-mère présentaient les premiers symptômes de rage le 6e ou le 7e jour et mouraient le 8e ou le 9e. On a commencé d'observer, à partir du 4e passage un raccourcissement de la période d'incubation. Pris le 5e ou le 6e jour, le cobaye succombait le 6e ou le 7e. A partir du 7e passage, la période d'incubation n'a plus été que de 5 jours et elle s'est maintenue à ce taux d'une façon immuable au cours des passages ultérieurs. Reporté sur le lapin après avoir passé 10 fois par le cobaye, ce virus a déterminé un

(1) La durée de la rage déclarée est, chez le cobaye, sensiblement plus grande avec le virus fixe qu'avec le virus de rue. Peut-être le fait doit-il être attribué à ce que le virus fixe, adapté à l'organisme du lapin, ne l'est pas à celui du cobaye.

léger raccourcissement de la période d'incubation, qui est descendue, de façon fixe, à 7 jours, et un raccourcissement très notable de la période d'état. La mort, au lieu d'avoir lieu du 11[e] au 12[e] jour, s'est produite le 9[e] ou le 10[e] et le gain de 2 ou 3 jours ainsi réalisé par le passage sur le cobaye s'est solidement maintenu au cours des passages ultérieurs de lapin à lapin. Il est donc parfaitement exact de dire que le passage par le cobaye exalte la virulence du virus fixe et légitime de recommander ce passage dans les cas, exceptionnels il est vrai, où, sous des influences encore mal connues, on observe dans les instituts antirabiques un fléchissement du virus fixe comparable au fléchissement qui, beaucoup plus fréquemment, mais sous des influences imparfaitement connues également, se produit dans les instituts vaccinogènes.

La rage du cobaye à virus fixe ne paraît guère prêter à d'autres considérations intéressantes. Dans ce qui va suivre, il ne sera de nouveau question que de la rage à virus de rue.

INFLUENCE DE DIVERS FACTEURS SUR LA SYMPTOMATOLOGIE

Un certain nombre de facteurs sont susceptibles de modifier chez le cobaye la symptomatologie de la rage comme aussi la durée et la marche de la maladie. Nous passerons en revue les principaux.

1° Influence du nombre des passages.

Nos expériences ont porté sur trois virus :

Premier virus. — Le 4 juillet 1916, le bulbe d'un chien ayant présenté tous les symptômes de la rage furieuse est inoculé à trois cobayes, dans la chambre antérieure (mort au 24[e] jour, rage paralytique); dans les muscles de la cuisse (mort au 29[e] jour, rage paralytique) et sous la peau de l'abdomen (mort au 31[e] jour, forme mixte). Un premier passage dans la chambre antérieure amène la mort le 13[e] jour à la suite d'une affection où les phénomènes paralytiques prédominent largement sur les symptômes d'excitation. Il en est de même aux

deuxièmes passages pratiqués dans le cerveau (mort au 8e jour), dans l'œil (mort au 10e jour), dans les muscles de la cuisse (forme franchement paralytique, mort au 15e jour). A partir du 4e passage, les animaux inoculés dans le cerveau prennent nettement la forme furieuse et bientôt, après s'être produite les 10e, 9e et 8e jours, la mort à la suite de l'inoculation sous-dure-mérienne a lieu le 7e, parfois même le 6e jour. A partir du 12e passage, on observe une grande atténuation des phénomènes d'excitation et l'on voit fréquemment les animaux succomber à des rages étiquetées : furieuse-atténuée, ou encore à ces formes dyspnéiques, plus ou moins atténuées elles-mêmes, qui simulent les broncho-pneumonies ou les septicémies communes du cobaye. A ce moment, les animaux sont régulièrement pris le 5e ou le 6e jour et ils meurent du 5e au 7e. Aux environs du 20e passage, des phénomènes paralytiques viennent se superposer aux autres symptômes observés chez l'animal. Ils prennent au cours des passages ultérieurs une importance croissante et, à partir du 25e, c'est à des formes exclusivement paralytiques que succombent les animaux.

Deuxième virus. — Un chien ayant présenté les principaux symptômes de la rage furieuse est autopsié le 3 août 1916. Son cerveau sert à inoculer, dans les muscles de la cuisse, un cobaye qui succombe le 27e jour à la rage paralytique ; 3 cobayes sont alors inoculés : le premier dans le cerveau (mort le 19e jour de rage paralytique) ; le deuxième dans la chambre antérieure (rage spasmodique, mort au 18e jour) ; le troisième, dans les muscles (rage paralytique, mort au 45e jour). Un 2e passage pratiqué dans l'œil donne également une rage paralytique (mort au 9e jour), tandis que les suivants donnent tous une rage furieuse (inoculation sous-dure-mérienne), une rage tantôt furieuse, tantôt spasmodique (inoculation intra-oculaire). Parallèlement, la période d'incubation se raccourcit. Elle descend à 5-4 jours et la mort se produit le 6e et même le 5e. A partir du 15e passage, la rage se manifeste toujours sous la forme furieuse, mais la symptomatologie se fait de moins en moins violente et l'on observe une tendance croissante à l'atténuation des symptômes. Au 25e passage, les phénomènes paralytiques font leur apparition, et désormais c'est exclusivement à la

forme paralytique que, le 5e ou le 6e jour, succomberont les animaux.

Troisième virus. — Le 21 août 1916, le bulbe d'un chien ayant succombé à une rage paralytique typique sert à inoculer deux cobayes : l'un dans la chambre antérieure (rage paralytique, mort au 15e jour); l'autre dans les muscles de la cuisse (mort au 19e jour, rage paralytique également). Un 1er passage pratiqué dans le cerveau donne une rage furieuse pure de tout symptôme parétique (mort le 8e jour), et la maladie — inoculée sous la dure-mère — continue de se transmettre sous la forme furieuse jusqu'au 7e passage, la mort survenant régulièrement le 7e et même le 6e jour. A partir de ce moment, on note une atténuation très grande dans les symptômes d'excitation présentés par les animaux. Les cobayes succombent à des formes tranquilles, dyspnéiques et, n'étaient les commémoratifs, le tableau symptomatique ne pourrait pas être distingué de celui d'une pneumonie ou d'une septicémie. La mort a lieu de façon absolument fixe le 6e jour. A partir du 11e passage, on assiste à une nouvelle modification. Les phénomènes paralytiques apparaissent et l'on voit les animaux succomber à des formes paralytiques de plus en plus typiques et bientôt à des formes pures de tout mélange.

Les résultats de ces trois séries d'inoculations peuvent facilement se superposer les uns aux autres. Si l'on part d'un bulbe de chien, les premiers passages par le cobaye donnent le plus souvent tout d'abord la rage paralytique (1). Après 2-4 passages, on observe au contraire la rage furieuse et on l'observe sous sa forme la plus exaltée. Du 7e au 15e passage, la violence des symptômes s'atténue. On assiste à l'évolution de rages qu'on ne peut plus, sans un certain abus de langage, qualifier de furieuses. Ce sont des formes dyspnéiques certainement plus voisines, quant à l'expression symptomatique, d'une pneu-

(1) Il ne semble pas que ce fait puisse être érigé en loi générale. Dans les instituts antirabiques où le cobaye est fréquemment employé pour le diagnostic de la rage chez les animaux mordeurs (inoculation dans les muscles de la nuque le plus souvent), il est très fréquent, mais non absolument constant, de voir les animaux succomber à la rage paralytique.

monie ou d'une septicémie que de la rage. Parallèlement la durée de l'incubation et celle de la maladie déclarée se raccourcissent au point que la mort se produit, avec une très grande régularité, du 5e au 7e jour. Enfin, du 11e au 25e passage, des phénomènes paralytiques se greffent sur les précédents ; peu à peu la rage paralytique s'installe ; elle devient de plus en plus typique et bientôt, du 15e au 30e passage, s'observe pure de tout mélange quel que soit le nombre de fois que le virus passera de cobaye à cobaye (1).

2° Influence du mode d'inoculation.

L'influence du mode d'inoculation sur la symptomatologie est manifeste comme celle du nombre des passages.

Les inoculations sous-dure-mériennes et intracérébrales paraissent se comporter de façon identique. En pratique, du reste, chez un animal de petite taille, comme le cobaye, l'une et l'autre se confondent. A moins d'apporter à l'opération une attention spéciale, on n'est jamais sûr qu'une partie du virus destiné à l'espace sous-dure-mérien n'a pas pénétré dans le cerveau et inversement. A l'exception de la forme paralytique pseudo-tétanique et de la forme spasmodique — encore cette dernière existe-t-elle parfois à l'état d'ébauche — toutes les formes de rage peuvent être réalisées par les inoculations cérébrales et sous-dure-mériennes. Toutes choses égales d'ailleurs, les formes furieuses et paralytiques paraissent se produire avec une fréquence sensiblement égale. Les formes dyspnéique, pseudo-septicémique et foudroyante viennent ensuite.

Si l'on en excepte la forme tétanique, toutes les formes de rage peuvent également être observées à la suite de l'inoculation dans la chambre antérieure, mais la forme spasmodique, essentiellement caractérisée — on s'en souvient — par une

(1) Inoculés au lapin par trépanation, les virus les plus exaltés pour le cobaye, ceux par exemple qui avaient amené la mort le 5e jour, ont régulièrement donné la rage après une incubation de 7 jours, la mort survenant le 9e ou le 10e. De même encore, les virus qui avaient donné au cobaye les formes les plus violemment furieuses, reportés sur le lapin, ont toujours donné lieu à la rage paralytique. Les mêmes virus, inoculés au chien par diverses voies, ont également produit la rage paralytique. Toutefois les expériences pratiquées sont ici trop peu nombreuses pour que le fait puisse être érigé en loi générale.

réaction violente de l'œil inoculé, des spasmes du pharynx et des crises convulsives, est de beaucoup la forme la plus souvent notée.

Même en employant un virus de rue renforcé par de nombreux passages chez le cobaye et, par conséquent, bien adapté à son organisme, nous n'avons jamais pu déterminer l'apparition de la rage par instillations conjonctivales. Au contraire, si, en évitant avec le plus grand soin le plus léger traumatisme de la muqueuse, on fait tomber quelques gouttes d'émulsion rabique dans les fosses nasales du cobaye, la rage apparaît en moyenne 1 fois sur 4 ou sur 5. A la suite de ces inoculations, la maladie n'évolue pas sous une forme furieuse très violente ou sous une forme franchement paralytique, mais sous des formes atténuées, dyspnéique ou pseudo-septicémique ainsi que sous la forme spasmodique. De même que lors de l'inoculation intra-oculaire, le premier symptôme est le plus souvent alors une vive réaction locale. Le cobaye renifle bruyamment et traduit en se frottant vigoureusement le nez soit avec ses pattes, soit contre les barreaux de sa cage, la sensation de prurit dont la muqueuse des fosses nasales est le siège. On observe également à la suite des instillations nasales la mort subite ou en apparence subite, le décès survenant avant qu'aucune manifestation pathologique ait eu le temps d'être notée. Il va de soi que des passages ont assuré le diagnostic dans tous les cas.

Avec l'inoculation intramusculaire, les formes paralytiques prédominent largement; la maladie débute fréquemment par la région inoculée et si l'injection a été poussée dans un muscle des membres, c'est la forme tétanique qui est observée.

Ce sont également les formes paralytiques qui prédominent lors des inoculations intraveineuses ou intra-artérielles, mais la paralysie est alors du type flasque.

Même avec un virus bien adapté au cobaye, les inoculations sous-cutanées exposent à de nombreux échecs. En cas de réussite, toutes les formes de rage peuvent être observées.

Cette étude de différents modes d'inoculation conduit à se demander s'il n'existe pas une rage splanchnique comparable au tétanos splanchnique. On sait qu'on désigne sous ce terme

une forme très spéciale de tétânos expérimental et aussi clinique. Binot a montré expérimentalement que, si on injecte de la toxine tétanique dans les différents viscères, on observe un tétanos très particulier, différent à la fois du tétanos ordinaire avec contractures et du tétanos cérébral de Roux et Borrel. Il est caractérisé par un début brusque, sous forme de frémissements vibratoires généralisés; des spasmes de contractures mettant les pattes en extension perpendiculaire, l'absence complète au contraire de contractures permanentes; le rebondissement de l'animal quand on le laisse tomber sur l'extrémité des pattes contracturées spasmodiquement; une démarche impulsive, automatique..., etc. Il nous a semblé d'autant plus intéressant de rechercher s'il n'existait pas expérimentalement un type de rage splanchnique que, cliniquement, les analogies entre le tétanos splanchnique et la rage sont très grandes (1), à tel point que, le tétanos splanchnique succédant habituellement à une inoculation viscérale, qui se prête mal à la recherche du bacille, on peut se demander si certains cas ne doivent pas être rapportés à la rage. Il y a quelques années, une première série d'expériences (2) avait porté sur du virus fixe et des inoculations dans les ganglions lymphatiques, le rein, le testicule, etc. Elle nous avait conduit à répondre à l'hypothèse d'une rage splanchnique par la négative. Les conclusions d'une nouvelle série de recherches faites avec un virus de rue bien adapté à l'organisme d'un cobaye, sont de tout point identiques. Les inoculations dans le foie, le rein, le cœur, le poumon ont donné d'assez nombreux insuccès. Lorsque la mort s'est produite, elle a été amenée par des formes paralytiques flasques, des formes tranquilles dyspnéiques, pseudo-septicémiques, très analogues à celles qui se manifestent à la suite des

(1) Cliniquement, le tétanos splanchnique est caractérisé par une contracture des muscles de la déglutition et de la respiration qui se traduit par une dysphagie et une hydrophobie intenses, des crises d'étouffement par spasme des muscles de la glotte et des autres muscles respiratoires, une dyspnée et des phénomènes asphyxiques très rapidement menaçants. Le trismus et la raideur de la nuque sont peu marqués et les contractures ne se généralisent pas aux autres muscles. Le pronostic est fatal. La mort survient en 24 à 48 heures.

(2) P. Remlinger, *Le Virus rabique et le vaccin antirabique se propagent-ils par voie lympathique?* Communication à la Société de Biologie, séance du 24 mars 1916.

inoculations intracraniennes ou intra-oculaires. Les morts subites ont été également fréquentes. Aucune particularité clinique n'a pu être mise en relief et nous nous croyons fondé à nier l'existence d'un type splanchnique de la rage.

3° Influence du siège de l'inoculation.

Un exemple très net de l'influence du siège de l'inoculation sur la symptomatologie est fourni par la comparaison des effets de l'injection du virus rabique dans les muscles de la cuisse et de la nuque.

Exp. XXXIII. — Le 4 novembre 1916, 1 cent. cube d'une émulsion épaisse de virus de rue est injecté dans les muscles de la nuque d'un premier cobaye et dans les muscles de la cuisse d'un second.

Le 19 novembre (8e jour), le cobaye inoculé à la nuque, a la tête tombante par paralysie musculaire, de la dyspnée, une démarche saccadée. Il est manifestement pris. A midi, la paralysie est presque complète et la tête repose à plat sur le sol de la cage. L'animal frotte vigoureusement avec la patte la région inoculée, comme si celle-ci était le siège d'un prurit intense. Il pousse des cris perçants et plaintifs. Le soir, la dyspnée est beaucoup plus violente. Le cobaye se couche sur le côté. Il est trouvé mort le 20 au matin (9e jour).

Le cobaye inoculé à la cuisse présente, le 20 novembre (9e jour), une paralysie, avec contracture, tétaniforme, du membre postérieur droit. Il le traîne à sa suite en extension forcée. Le lendemain, la paralysie a gagné le côté opposé et c'est tout le train postérieur qui suit le malade lorsque celui-ci se déplace. Le soir, la paralysie gagne le train antérieur. L'animal est trouvé mort le 22 au matin (10e jour).

Exp. XXXIV. — Le 7 décembre, on injecte dans les muscles de la nuque d'un premier cobaye et dans les muscles de la cuisse d'un second 1/2 cent. cube d'une émulsion épaisse de virus de rue.

Le 16 décembre (8e jour), le cobaye inoculé à la cuisse traîne après lui, dès le matin, son membre postérieur droit, complètement paralysé et en état de contracture tétanique. Le lendemain 16 (8e jour), la maladie a gagné le côté opposé. Le soir, une vive dyspnée se déclare. L'animal se couche sur le côté et ne tarde pas à succomber (8e jour).

Parfaitement portant le 15, le cobaye inoculé dans les muscles de la nuque présente le 16 au soir un peu de chute de la tête par paralysie musculaire, de dyspnée et d'inappétence. Il est trouvé mort le 17 au matin. Passage positif.

Exp. XXXV. — Le 12 février, trois cobayes reçoivent respectivement dans les muscles de la nuque, de l'épaule et de la cuisse 1 cent. cube d'une émulsion centésimale de virus de rue. Le 20 au soir (8e jour), le cobaye inoculé à la nuque tient la tête inclinée sur le côté, sans que la palpation de la région révèle la cause de cette attitude. Il n'existe aucune contracture

musculaire mais plutôt de l'hypotonie. Il y a en même temps un peu de dyspnée, en sorte que la rage ne fait aucun doute. L'animal est trouvé mort le 21 au matin (9e jour). Passage positif.

Le même jour (9e), le cobaye inoculé à la cuisse montre, dès le matin, une paraplégie complète du train postérieur, paraplégie flasque mais avec légère contracture en extension du membre droit (inoculé). Le reste du corps n'a rien et l'animal dévore avec avidité son orge et ses herbages. Le soir, une dyspnée violente s'installe. Le cobaye se couche sur le côté et meurt après une courte agonie.

Le même jour également (9e), le cobaye inoculé dans les muscles de l'épaule présente une monoplégie du membre antérieur droit. Bien que limitée au côté inoculé, cette paralysie paraît le gêner beaucoup plus que la paraplégie complète (train postérieur) de l'animal précédent n'incommode celui-ci. Il se déplace en claudicant au prix de grandes difficultés et ne renonce à l'immobilité que si on l'y contraint. Il mange peu et pousse de temps à autre des cris plaintifs. Le soir, la paralysie s'étend aux quatre membres; la dyspnée s'allume; l'animal demeure étendu sur le côté et agonise. Mort le 22 au matin (10e jour).

En cas d'inoculation intramusculaire, le mode de début et la marche de la paralysie — c'est-à-dire toute la symptomatologie de la maladie — sont donc commandés par le siège de l'injection et, en cas d'inoculation dans les muscles de la cuisse, il se surajoute de plus à l'élément paralytique une contracture en extension très caractéristique qui rappelle la contracture tétanique. Nous noterons, en passant, qu'une conséquence des observations qui précèdent paraît être que, pour le diagnostic de la rage chez les animaux mordeurs, l'inoculation dans les muscles de la nuque n'a peut-être pas, sur l'inoculation dans les muscles de la cuisse, la supériorité qui — théoriquement sans doute, en raison de la proximité plus grande du système nerveux central — lui est attribuée dans un certain nombre d'instituts. L'affection, moins caractéristique cliniquement, peut plus facilement passer inaperçue et cet inconvénient n'est pas compensé par un raccourcissement de la période d'incubation, la maladie pouvant se déclarer et la mort survenir plus tôt dans les cas de l'inoculation à la cuisse que dans celui de l'inoculation à la nuque (Exp. II).

Des particularités analogues à celles qui viennent d'être relevées s'observent, en fonction du siège des inoculations, lors des injections sous-cutanées. L'inoculation du virus rabique sous la peau de la nuque, des membres supérieur ou inférieur, du thorax, de l'abdomen, etc., donne d'abord une paralysie

localisée à ces régions, puis la paralysie s'étend et l'animal succombe. Nous n'en citerons qu'un exemple :

Exp. XXXVI. — Le 27 janvier, 1 cent. cube d'une émulsion centésimale de virus de rue est inoculé respectivement sous la peau de la face, de la nuque, de l'épaule, du thorax, de l'abdomen, de la cuisse et de la plante du pied de 7 cobayes.

Le 4 février (8e jour), le cobaye, inoculé sous la peau de la cuisse droite, présente une paralysie complète de tout le membre postérieur correspondant. Celui-ci est en extension, très légèrement contracturé et l'animal le tire après lui comme un boulet. Il ne paraît du reste que très peu incommodé et va et vient dans sa cage comme d'habitude. Vers midi, le membre postérieur gauche commence à se prendre. Le soir, la paraplégie est absolue. L'animal est trouvé mort le 5 au matin (9e jour).

Le 8 février (12e jour), le cobaye inoculé sous la peau de la nuque se tient obstinément couché dans un coin de sa cage. Il ne touche pas à ses aliments, est triste, dyspnéique, mais ne présente d'autre signe de paralysie qu'un peu de chute de la tête. Son état se maintient identique pendant toute la journée. Il est trouvé mort le lendemain matin, sans qu'on ait pu assister par conséquent à l'extension de la maladie. Passage positif au point de vue de la rage.

Le 8 février également (12e jour), le cobaye inoculé à l'épaule droite présente une difficulté très accusée de la marche, difficulté causée par une paralysie flasque du membre antérieur droit. Le soir, la paralysie gagne le côté opposé et s'étend au train postérieur. Dyspnée. L'animal est trouvé mort le 9 au matin.

Le 10 février (14e jour), le cobaye inoculé sous la peau de l'abdomen est pris à son tour. Il se tient immobile, en proie à une dyspnée intense. Si on le force à se déplacer, il avance gauchement, en rampant pour ainsi dire. Bientôt il chancelle, tombe sur le côté et éprouve à se remettre d'aplomb les plus grosses difficultés. L'après-midi, la dyspnée s'exagère ; l'animal se couche et meurt après une courte agonie.

Le 10 février également (14e jour), le cobaye inoculé sous la peau de la plante postérieure droite présente, dès le matin, une paraplégie flasque et complète de tout le train de derrière, qu'il tire après lui en se déplaçant. L'animal va et vient dans sa cage, mange de bon appétit, a sa physionomie habituelle et ne paraît pas autrement incommodé. Le lendemain, l'état est stationnaire, la paralysie est limitée aux membres postérieurs et le cobaye continue à présenter, à la paraplégie près, les apparences d'une bonne santé. Le surlendemain, par contre, l'état s'est beaucoup aggravé. La paralysie a envahi le train antérieur et l'animal peut à peine bouger. La dyspnée devient bientôt très vive. Vers midi, il tombe sur le côté et commence d'agoniser. Mort le soir.

Le 17 février (21e jour), le cobaye, inoculé sous la peau du côté droit du thorax, présente une paralysie localisée aux muscles de l'épaule du même côté. Il s'avance en boitant de l'épaule droite, tombe souvent et a beaucoup de peine à se relever. Le membre antérieur gauche et le train postérieur gauche sont tout à fait indemnes. Le soir, la dyspnée s'allume. L'animal est trouvé mort le 18 au matin (22e jour).

Le cobaye inoculé sous la peau de la face, dans le tissu cellulaire très lâche qui se trouve entre les deux yeux, n'a présenté aucun symptôme de rage.

Ainsi, qu'il s'agisse d'inoculations intramusculaires ou d'injections sous-cutanées, il semble que, chez le cobaye, le neurone moteur correspondant à la région où se fait l'absorption du virus, par les nerfs périphériques, soit le premier saturé par le poison et que, pour cette raison, la paralysie commence par le siège de l'inoculation. C'est là une des nombreuses analogies qui existent entre la rage et le tétanos expérimentaux (1).

4° Influence de quelques autres facteurs.

Il nous suffira de rappeler d'un mot l'influence sur la symptomatologie du virus fixe et du virus de rue. Tous les virus de rue ne se comportent pas eux-mêmes de façon identique. Nous avons pu constater à diverses reprises que chez le cobaye les manifestations paralytiques étaient plus fréquentes et plus précoces avec le virus provenant de chiens morts de rage paralytique qu'avec le virus d'animaux ayant succombé à la forme furieuse. L'histoire de notre 3e virus (voir plus haut) vient à l'appui de cette manière de voir. De même, les jeunes et surtout les très jeunes cobayes — ceux que sans le secours d'un foret on inocule directement dans le cerveau à l'aide d'une simple aiguille à travers les fontanelles non encore ossifiées — ont une propension très marquée aux formes dyspnéiques, pseudo-septicémiques et surtout à la rage paralytique, tandis que les adultes et les vieux font plus fréquemment des formes spasmodiques et des formes furieuses. De même encore, les faibles doses de virus donnent souvent des formes furieuses plus ou moins violentes, tandis que les doses massives prédisposent à la rage paralytique. Il y a dans tout ceci une certaine unité. La rage paralytique s'observe lorsque après un certain nombre

(1) Chez le chien, chez le lapin, où le fait — encore que souvent observé — est moins fréquent que chez le cobaye, on peut supposer que, les cellules des centres moteurs correspondant aux muscles paralysés, les premiers sont plus que d'autres doués d'une sensibilité élective pour le virus rabique. On sait que pareille hypothèse a été formulée pour le tétanos qui, chez le cheval, débute le plus souvent par une contracture du corps clignotant. et chez l'homme commence presque toujours par de la dysphagie ou du trismus, quel qu'ait été le siège de l'inoculation.

de passages les virus sont bien adaptés à l'organisme du cobaye, lorsque la matière virulente est portée directement au contact du système nerveux central ou périphérique (terminaison nerveuse des muscles); lorsque les cobayes sont jeunes, partant peu résistants, ou que les doses inoculées sont massives. Nous insistons du reste, depuis longtemps, sur ce que, chez l'homme comme chez les animaux mordeurs, la rage paralytique n'est nullement une rage à virus affaibli, mais au contraire renforcé, et sur ce qu'il y a là une nouvelle raison — à côté de tant d'autres — pour que les paralysies du traitement antirabique ne soient pas des cas de rage canine « transformée, atténuée par le traitement », ainsi que le veulent un certain nombre d'auteurs.

* * *

COMPARAISON DU COBAYE ET DU LAPIN

Il résulte de ce qui précède qu'en matière de rage le cobaye présente par rapport au lapin à la fois des avantages et des inconvénients. Le cobaye est plus sensible au virus rabique que le lapin. La période d'incubation est plus courte alors que, chez le lapin, sa longueur est souvent un sérieux ennui. Des doses infimes de virus ou des virus atténués qui laisseraient le lapin indifférent donnent la maladie au cobaye. On aura donc recours à celui-ci lorsqu'on est pressé de savoir si un animal est enragé, si un organe renferme du virus ou lorsqu'on expérimente sur un produit qu'on suppose ne contenir que très peu de matière virulente ou ne la renfermer qu'à l'état d'atténuation. C'est ainsi que toutes les expériences sur la présence du virus rabique dans le sang, dans les organes autres que le système nerveux ou les glandes en grappe, que toutes les recherches sur le passage du virus rabique de la mère au fœtus, sur l'hérédité de la rage (Konradi)..., etc., ne doivent pas porter sur le lapin mais sur le cobaye.

A côté de ces avantages, le cobaye présente des inconvénients dont quelques-uns sont dus à l'excès même de ses qua-

lités. La durée de la rage déclarée peut être très courte. La maladie peut évoluer au cours non seulement d'une nuit mais encore des quelques heures de jour qui séparent d'ordinaire deux visites aux animaux dans la plupart des laboratoires. On est exposé à trouver mort à midi un cobaye qui, à 8 heures, présentait toutes les apparences de la santé. La recherche des corps de Negri ou les passages sont nécessaires pour fixer le diagnostic et il en résulte une perte de temps. Chez le lapin, si l'on en excepte les tout jeunes animaux, la rage dure un temps beaucoup plus long. Elle n'expose donc plus à ces sortes de surprise. La rage du lapin a, en outre, une symptomatologie très uniforme. Les phénomènes paralytiques prédominent largement sur les phénomènes d'excitation, qui s'observent seulement au cours des premiers passages effectués en partant du chien et, en dehors de la forme paralytique et d'une forme mixte mi-furieuse, mi-paralytique, il n'y a guère place dans les descriptions pour d'autres modalités. Il en résulte une facilité très grande d'observation. Les animaux peuvent, au cours d'un déplacement par exemple, être confiés à un aide peu familiarisé avec la rage, voire à un garçon de laboratoire, sans que des erreurs soient à craindre. Il en va tout autrement avec la rage du cobaye. Sa symptomatologie extrêmement variée est très intéressante au point de vue purement scientifique, mais présente des inconvénients au point de vue pratique. Non seulement la rage du cobaye peut se présenter sous une forme furieuse tellement atténuée qu'elle en est méconnaissable, mais encore elle peut simuler une broncho-pneumonie, une septicémie. Un passage est bien souvent nécessaire pour assurer le diagnostic. Notons toutefois que, tandis que la rage paralytique du lapin est si éloignée du type le plus fréquent et le plus populaire de la rage de l'homme, la forme spasmodique du cobaye, très souvent consécutive aux inoculations intra-oculaires, présente un aspect clinique impressionnant et en outre voisin du type humain, ce qui — tout comme les inoculations au chien — peut présenter certains avantages pour convaincre un incrédule, intéresser un auditoire..., etc.

Ce parallèle du cobaye et du lapin peut, croyons-nous, être résumé dans le tableau suivant :

LAPIN	COBAYE
Le lapin est moins sensible que le cobaye. On l'emploiera lorsque le produit à inoculer contiendra une grande quantité de virus ou une petite quantité d'un virus exalté.	Plus sensible que le lapin. On aura recours à lui lorsque le produit à inoculer sera présumé ne renfermer que peu de virus ou ne contenir qu'un virus atténué.
Période d'incubation plus longue.	Période d'incubation plus courte. Donc s'adresser au cobaye si on est pressé.
La rage du lapin est toujours ou presque toujours une rage paralytique. D'où grande simplicité du diagnostic.	La rage du cobaye revêt de très nombreux types cliniques. D'où souvent réelle difficulté du diagnostic et nécessité d'assurer celui-ci au moyen d'un passage.
La durée de la maladie déclarée est plus longue. D'où facilité pour l'observation.	La durée de la rage est parfois si courte (moins d'une nuit, moins de 3-4 heures de jour) que la maladie peut passer inaperçue. D'où encore nécessité des passages.
Type clinique toujours très éloigné du type humain et du type populaire de la rage.	Parfois (forme spasmodique) type clinique impressionnant et voisin du type humain.

Nous ferons remarquer en terminant qu'une conséquence de la façon différente dont les deux espèces animales se comportent à l'égard de la rage paraît être que, dans certain cas, il peut y avoir avantage à faire porter à la fois sur le cobaye et le lapin inoculés soit simultanément, soit successivement certaines expériences. Nous avons adopté pour notre part la ligne de conduite suivante : un produit supposé ne renfermer que peu de virus ou le contenir à l'état d'atténuation est inoculé au cobaye parce que, faite sur le lapin, l'expérience exposerait à

un résultat nul ou trop tardif. Le cobaye vient-il à succomber au milieu de symptômes ambigus ou sans symptômes, son bulbe est inoculé sous la dure-mère d'un lapin. Cette fois, si le cobaye est mort de la rage, le lapin ne manquera pas — et au bout d'un temps relativement court — de succomber lui-même à une maladie typique qu'on aura tout le temps d'observer à loisir.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

En opposition avec la rage à virus fixe — toujours du type paralytique — la rage à virus de rue a, chez le cobaye, une physionomie des plus variables. La forme furieuse est une des plus fréquemment observées, mais tous les intermédiaires existent entre les modalités les plus violentes et, au contraire, les plus atténuées. Parfois, l'agitation est nulle; le symptôme dominant est la dyspnée et la symptomatologie simule à s'y méprendre celle d'une des nombreuses affections pulmonaires épizootiques du cobaye. La dyspnée peut elle même être très peu marquée et l'analogie est alors plus grande avec une septicémie qu'avec une broncho-pneumonie.

La forme spasmodique qui s'observe particulièrement à la suite des inoculations dans la chambre antérieure et des instillations nasales est très spéciale. Elle est essentiellement caractérisée par une réaction violente à la fois objective et subjective (prurit) du point inoculé, des ronchus du pharynx, des spasmes de cet organe et des crises convulsives. Elle offre de grandes analogies avec la forme la plus commune de la rage de l'homme.

La durée de la rage déclarée peut, chez le cobaye, être très minime. A côté des formes précédentes qui évoluent d'ordinaire en 24-48 heures, il faut décrire une forme foudroyante dont la durée est si courte que la maladie peut échapper à l'observation et que la mort paraît se produire subitement. Il s'ensuit que, dans les expériences sur la rage, tout cobaye qui succombe sans symptômes doit être tenu pour suspect. Les corpuscules de Negri seront recherchés et le bulbe servira à faire un passage.

La rage paralytique se manifeste sous une forme flasque et

sous une forme à contracture ou pseudo-tétanique. L'une et l'autre peuvent revêtir une marche ascendante et réaliser le syndrome de Landry, si fréquent au cours des manifestations rabiques.

Un certain nombre de facteurs sont susceptibles d'exercer leur influence sur la symptomatologie de la rage du cobaye. Au cours des passages de cobaye à cobaye, le virus de rue s'exalte plus rapidement qu'au cours des passages de lapin à lapin. Il arrive en huit à dix passages à amener la mort de façon fixe en 5 à 7 jours. Les premières inoculations en partant du chien peuvent donner la rage paralytique. Après 2 à 4 passages, on observe au contraire la rage furieuse et sous sa forme la plus exaltée. La violence des symptômes s'atténue par la suite. Il se produit des formes dyspnéiques, pseudo-septicémiques, qui, elles-mêmes, aux environs du 20e passage, font place à la rage paralytique, laquelle s'installe définitivement. Le mode d'inoculation et, en cas d'injection intramusculaire ou sous-cutanée, le siège de l'inoculation, l'âge de l'animal, la dose du virus injecté, etc., ont également leur répercussion sur les symptômes observés. Si, avec les injections intracranienne et intra-oculaire, toutes les formes de rage peuvent être notées, les inoculations dans les muscles de la cuisse ou à la plante du pied donnent presque exclusivement la forme pseudo-tétanique. L'analogie avec le tétanos est complétée par ce fait qu'en cas d'inoculation sous-cutanée ou intramusculaire la paralysie débute presque toujours par la région inoculée.

La rage paralytique s'observe surtout avec les virus paralytiques de rue, chez les jeunes animaux et avec les fortes doses de virus, tandis que l'âge adulte et les doses faibles prédisposent à la rage furieuse. Il n'existe pas dans la rage expérimentale du cobaye un type splanchnique comparable au type splanchnique du tétanos.

Le cobaye est sensiblement plus réceptif au virus rabique que le lapin. La période d'incubation est, chez lui, plus courte et des doses infimes de virus, ou des virus atténués qui laisseraient le lapin indifférent, lui donnent la maladie. Il y a là un sérieux avantage que contrebalancent en partie seulement la brièveté de la maladie et la variabilité du type clinique. Il ne faut pas le perdre de vue au cours des recherches sur la rage.

ÉTUDES SUR LA PESTE BOVINE

par H. SCHEIN.

Alors que la vaccination des bovidés contre la peste bovine, par les injections simultanées de sérum et de virus, donne toute satisfaction, ce procédé, appliqué aux buffles, tant au laboratoire que dans la pratique, n'aboutissait qu'à des résultats si peu favorables que mes collègues et moi n'osions le mettre en œuvre, la vaccination de certains troupeaux de buffles m'ayant donné jusqu'à 60 p. 100 de pertes. Sur le conseil de M. le D[r] Roux, j'ai consacré ces dernières années à rechercher si l'on ne pouvait obtenir l'immunisation par l'injection de virus sensibilisés, par des procédés analogues à ceux qu'ont décrits M. Besredka pour la fièvre typhoïde de l'homme, M. Bridré pour la clavelée des bêtes ovines.

Kolle avait essayé, sans succès, des mélanges de sérum et de virus, mais son mémoire remonte à 1898, alors que l'on n'était pas fixé sur le mécanisme intime des phénomènes de sensibilisation.

Un vétérinaire turc, élève de M. Nicolle, Refik Bey, je crois, aurait dit avoir employé un procédé s'inspirant de ce principe, et en avoir été satisfait ; mais, à mon très grand regret, il n'a rien publié, et j'ignore tout de ses procédés.

Les recherches sur la sensibilisation du virus m'ont amené à faire des expériences accessoires. Je les citerai assez rapidement, m'étendant davantage sur les essais de sensibilisation. Je m'excuse de la longueur que j'y apporterai : peut-être ces détails auront-ils quelque utilité pour d'autres qui, modifiant mes techniques, pourraient arriver à des conclusions meilleures.

Animal d'expérience.

Comme animal d'expérience, j'ai utilisé la chèvre. En effet, pendant mon absence, ne trouvant plus de veaux pour entre-

tenir le virus, MM. Yersin et Krempf ont essayé des caprins; les premiers passages leur ont paru assez peu réguliers, les bêtes guérissaient, ou ne succombaient qu'au bout d'un temps prolongé; mais, en continuant systématiquement les passages, en prélevant le virus le 7e jour, au moment du maximum d'hyperthermie, le virus sembla s'habituer à ce nouveau milieu. Actuellement, sauf exception, les animaux meurent, et rapidement : les cinquante premiers passages de cette origine ont donné 87 morts sur 100 animaux effectivement inoculés avec 1/2 cent. cube de virus.

Ayant, par la suite, perdu le virus de cette série, je suis reparti en prenant du virus d'un veau. Dans cette nouvelle série, les 12 premiers animaux inoculés avec 1/2 cent. cube m'ont donné 4 guérisons : soit une mortalité de 66 p. 100. Des 12 animaux suivants, un seul a guéri, soit une mortalité de 91 p. 100.

La sensibilité de la chèvre d'Indo-Chine est donc tout à fait semblable à celle du buffle. Tout justifie le choix de cet animal, sensible, facile à manier, d'une abondance relative et bon marché (sept francs). Malgré ces conditions favorables, je n'ai pas toujours eu sous la main, au moment voulu, le nombre d'animaux nécessaire pour établir des témoins; j'ai dû faire des expériences successives, ce qui, finalement, a multiplié le nombre d'animaux, et rendu les conclusions moins rigoureuses.

L'activité du virus ne semble pas touchée par un grand nombre de passages par cet organisme inaccoutumé : au 59e passage, de même qu'au 169e, un veau inoculé *réagit* et guérit; au 172e le veau mourut.

Le virus siège dans les éléments figurés du sang.

Presque tous les auteurs admettent que le virus pestique se trouve dans les éléments figurés du sang. Seul, à ma connaissance, M. W. H. Boynton (1) croit prouver le contraire, en isolant, à l'aide d'une très fine pipette (méthode de Barber),

(1) A preliminary report of experiments on the cultivation of the virus of Rinderperst *in vitro*. *Philippine Journ. of Sc., B, Trop. Med.*, t. IX, f. 1, février 1914, p. 39-44 et *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1915, p. 40.

hématies ou leucocytes, et en les inoculant à l'unité, il ne reproduit pas la maladie.

Je n'ai pas répété cette expérience, dont j'expliquerai le résultat. Par contre, j'ai repris les expériences de Kolle et j'en ai vérifié les conclusions :

1° En abandonnant du sang virulent à la coagulation naturelle, le sérum a perdu sa virulence;

2° En centrifugeant du sang défibriné, le dépôt de globules reste virulent.

Comme ce phénomène est de première importance pour les expériences de sensibilisation, en fournissant un produit virulent figuré, manipulable, j'ai repris l'expérience à plusieurs reprises.

Le dépôt de globules, agité avec de l'eau physiologique pour le laver, centrifugé pour le séparer de cette eau, est resté virulent, après trois lavages et centrifugations. Ramené au volume du sang, le dépôt de globules s'est montré virulent, au centimètre cube d'abord, puis au millième de centimètre cube.

3° En centrifugeant du sang *citraté* virulent, après centrifugation, le dépôt de globules tue ; mais, au contraire du sérum, le *plasma* séparé après centrifugation reste virulent.

7 cent. cubes de ce plasma ont tué l'animal, comme le sang entier. Mais, à deux reprises, 1 centimètre cube n'a pas tué, ne donnant qu'une réaction assez forte, suivie d'immunité. 1/100, puis 1/10 de centimètre cube, n'ont ni tué, ni vacciné.

Repris, par la suite, les sujets ont succombé à l'inoculation d'épreuve.

Le plasma est donc, après centrifugation, infiniment moins virulent que le dépôt de globules, dont la virulence est pratiquement la même que celle du sang entier. J'ai, par la suite, repris ces expériences que j'examinerai plus en détail.

Hémolyse. — Devant utiliser du sérum antipestique fourni par le bœuf, pour manipuler du virus, mêlé à des hématies de chèvre, il convenait de s'assurer si ce sérum ne contenait pas des hémolysines naturelles pour les globules caprins.

Une dilution à 5 p. 100 de globules de chèvre a été mise en

contact, à diverses dilutions, avec le sérum à étudier, suivant les règles ordinaires, indiquées par le tableau :

	SÉRUM	GLOBULES A 5 P. 100	EAU PHYSIOLOGIQUE
Tube n° 1.	0 c.c. 1	0 c.c. 1	1 c.c. 8
Tube n° 2.	0 c.c. 1	0 c.c. 3	1 c.c. 6
Tube n° 3.	0 c.c. 1	0 c.c. 5	1 c.c. 4
Tube n° 4.	0 c.c. 1	0 c.c. 7	1 c.c. 2
. . . . .	. . . .	. . . .	. . . .
. . . . .	. . . .	. . . .	. . . .
. . . . .	. . . .	. . . .	. . . .
Tube n° 12.	0 c.c. 1	1 c.c. 9	0 c.c. 0

Il n'y a eu aucune hémolyse, même après vingt-quatre heures de contact, même en doublant la quantité de sérum dans le tube n° 1 (0 cc. 2 de sérum pour 0 cc. 1 de globules).

L'expérience faite avec le sérum normal, non chauffé et chauffé 1/2 heure à 56°, a été répétée, dans les mêmes conditions, avec les sérums provenant de trois bœufs différents, avec les mêmes résultats.

Je n'avais donc à craindre aucune perturbation de ce côté, dans mes expériences ultérieures et, de ce fait, au cours de celles-ci, jamais les dépôts de globules ne m'ont paru altérés.

Conservation du virus.

1° *Incorporation à la gélatine.* — Le sang défibriné du chevreau n° 268 est centrifugé; les globules, séparés, sont lavés et centrifugés deux fois, puis les globules sont incorporés dans une solution de gélatine (gélatine : 1 partie ; eau : 2 parties) neutralisée, maintenue liquide à 38°, température sans action sur le virus pestique, d'après l'unanimité des auteurs.

Ce mélange gélatine-globules est placé à la glacière, à une température variant de 2° à 5°, pendant quinze jours. Le quinzième jour, un chevreau (279) reçoit une quantité de ce mélange équivalent à 1 cent. cube de sang : aucune réaction. Réinoculé 15 jours après, il réagit et succombe en 16 jours.

Le sang du 268, essayé le jour de sa mise en conservation,

avait tué deux sujets (273 et 274) en 7 ou 8 jours. Ce procédé n'a donc pas assuré la conservation du virus.

2° *Conservation par la moelle osseuse.* — M. Lingard (1) signale la longue conservation du virus dans ce milieu. Le chevreau 447 est saigné le 31 mars, au 7e jour après l'inoculation, puis abattu (son sang s'est montré virulent sur deux témoins). On prélève ses fémurs, on les place dans des tubes d'eau physiologique fermés, le tout est mis au réfrigérant pendant 30 jours, à — 2°, — 5°, puis les os sont retirés, brisés, la moelle extraite, émulsionnée dans l'eau physiologique. 1 cent. cube de cette émulsion est inoculé sans succès à un animal, qui succombe à l'inoculation d'épreuve. Ce procédé n'a donc pas assuré la conservation du virus pendant un mois.

Dilutions.

Les tentatives de sensibilisation m'ont conduit à rechercher quel pouvait être approximativement le nombre des agents inconnus de la peste bovine, contenus dans 1 cent. cube de sang, prélevé toujours au 7e jour après l'inoculation infectante.

Dilution à 1/1.000. — Un centimètre cube en est toujours virulent, qu'il s'agisse de sang entier ou défibriné, à tel point que c'est avec cette dose que j'ai fait les passages destinés à entretenir le virus.

Sur 27 animaux ainsi inoculés, par passage, *un seul* (le n° 461) n'a rien présenté. On a dû commettre une faute de technique, car cet animal, repris par la suite avec 2 cent. cubes de virus de veau, a succombé. Cette non-infection accidentelle m'a d'ailleurs fait perdre le virus habitué à la chèvre, car je n'avais, par économie, qu'un animal de passage. J'ai dû, en repartant du bœuf, commencer une deuxième série; elle m'a donné les résultats suivants :

Pour les 12 premiers passages (à 1/2 cent. cube) :

+ + + + + 0 0 0 0 + + +
(les + représentent les morts, 0 les guéris);

(1) *Report on the preparation of Rinderpest protective serum.* Calcutta, 1905, et *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1906, p. 235.

Pour les 11 animaux inoculés, des mêmes jours, avec 1/1.000 de cent. cube des mêmes sangs :

+ + + + 0 + + + 0 0 0
(les + représentent les morts, 0 les guéris);

Pour les 12 suivants (à 1/2 cent. cube) :

+ + + + + + 0 + + + + +

Pour les mêmes (à 1/1.000) :

+ + + + + + + 0 + + + +

La virulence, à 1/1.000 de cent. cube est donc exactement aussi forte qu'à 1/2 cent. cube.

Les essais suivants n'ont porté que sur du sang *entier* dilué : 1 cent. cube, pris dans la jugulaire, à la seringue, est immédiatement mélangé à l'eau salée.

Dilution à 1/2.000 : 2 essais, 1 mort; 1 animal guérit, mais a présenté une réaction thermique nette.

Dilution à 1/5.000 : 1 essai, 1 mort.

Dilution à 1/10.000 : 5 essais, 4 morts; le 543, guéri, succombe par la suite à l'inoculation à 1/1.000.

Dilution à 1/25.000 : la limite est atteinte à 1/25.000 : 4 résultats positifs, dont 3 morts, sur 8 inoculations.

Le chevreau 361 meurt ; le chevreau 363 *réagit*, mais guérit (réaction nette : hyperthermie, diarrhée, jetage); le chevreau 372 *meurt* ; le chevreau n° 400 *guérit*, sans réaction, mais *succombe à une seconde injection de la même quantité* ; le 535 meurt; le 543 n'a aucune réaction à 2 inoculations successives, et meurt, par la suite, à une inoculation à 1/1.000; le 546 résiste, et meurt, par la suite, à 1/10.000.

Dilution à 1/50.000 : on n'a plus que des guérisons : aucun infecté, sur 6 inoculés. Il en va de même aux doses supérieures.

Dilution à 1/100.000 : 8 inoculations n'ont donné aucune réaction aux animaux. Repris ensuite à des doses croissantes, 4 d'entre eux ont succombé :

Le 367 reçoit : 1/10.000, puis 1/50.000, puis 1/2 cent. cube, et meurt.

Le 369 reçoit : 1/100.000, puis 1/10.000, et meurt.

Le 372 reçoit : 1/10.000 de cent. cube, puis, de *nouveau*, 1/10.000, puis 1/25.000, et meurt;

Le 373 reçoit : 1/100.000, puis 1/10.000, et meurt.

3 ont été vaccinés :

Le 365 reçoit : 1/10.000 de cent. cube, 1/50.000 de cent. cube, 1/20.000 de cent. cube, 1/2 cent. cube et *guérit* ;

Le 376 reçoit : 1/10.000, 1/20.000, 1/1.000 et 1/2 cent. cube, et *guérit* ;

Le 378 reçoit : 1/100.000, 1/20.000 et 1/1.000, et *guérit*.

M. Nicolle avait déjà montré que l'on ne pouvait compter sur ce procédé de vaccination.

Il semble bien que, de façon constante, chez la chèvre, 1/25.000 soit la limite des dilutions infectantes. Il y aurait donc environ 25.000 microbes, ou *groupes* de microbes, par cent. cube, soit *25* par millimètre cube.

Ce nombre n'est pas du tout en rapport avec celui des hématies ; de nombreuses numérations de globules du sang des chèvres, bien portantes ou malades de peste, pâturant en liberté, ou entretenues en stabulation, m'ont donné des chiffres oscillant autour de 10.000.000 d'hématies et de 8.000 leucocytes par millimètre cube. Il y a de grandes variations individuelles; l'âge, le mode d'entretien, ayant à cet égard plus d'importance que l'état de santé.

Il n'y a donc, si le virus est contenu dans les cellules blanches, qu'un leucocyte atteint sur environ 320. On s'explique que M. Boynton n'ait pas réussi à reproduire la maladie en n'inoculant qu'un ou deux globules blancs, et je suis ainsi amené à reparler du siège du virus.

Le virus siège dans les leucocytes.

J'ai centrifugé du sang dans un tube à effilure, puis tout le sérum a été éliminé. En opérant en même temps dans le second tube de l'appareil centrifuge, sur le même sang, j'ai vu que 10 cent. cubes de ce sang me donnaient 5 cent. cubes de sérum et 5 cent. cubes de dépôt de globules.

J'ai donc prélevé une goutte de la surface du dépôt de globules, et je l'ai mêlé à une goutte d'eau physiologique,

pour ramener à la concentration du sang. Ces deux gouttes ont été diluées à 1/50.000, un cent. cube de la dilution a été injecté à un chevreau. Puis, tout le dépôt de globules a été enlevé avec précaution, sauf les quelques gouttes de l'extrême culot; les parois de l'effilure ont été essuyées minutieusement, à l'aide d'une touffe de coton stérilisé, pour enlever le plus possible des globules de surface qui auraient risqué d'infecter; une goutte du dépôt de globules du fond a été prélevée, puis étendue d'une goutte d'eau physiologique, pour ramener au volume du sang; les deux gouttes ainsi obtenues ont été diluées à 1/5.000, un cent. cube de cette dilution a été injectée à un second chevreau.

Dans les conditions ci-dessus, j'ai considérablement enrichi le liquide de surface en globules blancs, qui étaient raréfiés en proportion inverse dans les globules du fond. J'ai fait trois fois cette expérience, avec des variations appropriées à la plus ou moins grande richesse du sang en éléments figurés : une fois il s'est trouvé 6 cent. cubes de sérum pour 4 cent. cubes de dépôt; j'ai modifié en conséquence la grosseur de la goutte de dépôt et celle de l'eau physiologique.

Cette expérience ne comporte pas une extrême rigueur; en réalité le dépôt pâteux de globules est un peu plus liquide à la surface que vers le fond et je n'ai pas réussi à n'avoir *que* des globules blancs dans mes prélèvements de surface. Les dilutions obtenues sont donc en réalité, l'une beaucoup plus faible que le 1/50.000, et la seconde plus forte que le 1/5.000; les résultats n'en sont que plus probants.

Dans les trois expériences, *jamais* le dépôt d'hématies pures, dilué à 1/5.000, ne s'est montré virulent, alors que le sang entier l'est presque constamment à 1/10.000.

Deux fois, les globules de surface, très riches en leucocytes, n'ont rien donné à 1/50.000, mais, la troisième fois, l'animal est mort en dix jours, alors que le sang entier ne tue jamais à cette dilution. Jointe à l'extrême rareté des parasites normalement contenus dans les humeurs pauvres en leucocytes [l'humeur aqueuse tuant instamment dilué à 1/4 de cent. cube (1)], cette expérience semble bien prouver que, ainsi que

(1) M. Nicolle et Adil Bey, Etudes sur la peste bovine (deuxième mémoire). Ces *Annales*, t. XV, 1901, p. 715.

le pensait M. Nicolle (1), le virus ait de préférence un siège intraleucocytaire.

On peut donc se représenter le virus pestique comme une sorte de virus leishmanien, surtout contenu dans certains leucocytes, et présentant de très rares formes libres dans le plasma. On s'explique ainsi pourquoi, le plus souvent, les dilutions étendues ont un des deux effets diamétralement opposés : ou bien elles tuent, ou bien elles sont inactives; c'est qu'alors on a injecté au moins un leucocyte chargé de microbes ou qu'au contraire on n'en a injecté aucun. Bien plus rarement ces mêmes dilutions vaccinent; on peut croire que, dans ce dernier cas, on injecte une ou deux formes libres de l'agent invisible, agissant sur un animal un peu plus résistant.

Cela explique aussi l'insuccès de la filtration opérée par certains auteurs; seules les formes libres peuvent franchir les pores du filtre, et elles sont très peu abondantes.

Dilutions du plasma.

En vue de vérifier si l'injection d'un produit contenant une ou deux unités du parasite était capable d'immuniser, j'ai essayé les dilutions de plasma, obtenues par centrifugation du sang virulent oxalaté (quatre minutes à 3.000 tours).

Je rappelle que 1 cent. cube de plasma pur avait, deux fois, vacciné. Par la suite, la même dose tua d'emblée.

Puis, 1/10 de cent. cube *vaccina* le 529 contre une injection virulente ultérieure, ne fit *rien* au 562, qui mourut à la réinoculation, et *tua d'emblée* le 554.

1/20 *tua d'emblée* 2 inoculés (565 et 573), se montra *inactif* sur 4 autres, qui moururent à la réinoculation (561, 566, 567, 570).

1/30 *tua d'emblée* deux inoculés (577, 578) et en *vaccina un* : le 574, contre une injection virulente massive de 1/2 cent. cube.

En général, dans les cas mortels, la maladie a paru un peu plus longue qu'après une inoculation de sang entier.

Comme les dilutions de plasma centrifugé ne contiennent probablement que des parasites isolés, on peut conclure :

(1) M. Nicolle et Adil Bey, Etudes sur la peste bovine (troisième mémoire). Ces *Annales*, t. XVI, 1902, p. 56.

1° Qu'il y a environ 20 parasites libres, donc probablement isolés, par centimètre cube de plasma;

2° Que ce parasite possède une virulence suffisante pour tuer à l'unité les animaux sensibles;

3° Que les rares cas de vaccinations obtenus par les dilutions de sang ou de plasma doivent surtout être attribués à la résistance individuelle des inoculés.

Essais « in vivo » des sérums spécifiques.

Avant de traiter *in vivo* le virus pestique, inclus dans des globules de chèvre, par des sérums provenant de différentes espèces, il fallait s'assurer de leur action sur la chèvre, surtout de celle des sérums hétérogènes.

Les tableaux ci-dessous résumeront les essais de séro-infection ainsi tentés :

1° *Sérum antipestique de bœuf* injecté simultanément avec 1 cent. cube de sang virulent.

QUANTITÉ de SÉRUM injecté	NOMBRE des ESSAIS	NOMBRE DE MORTS d'emblée	NOMBRE de GUÉRIS	NOMBRE DE MORTS à la réinoculation	GUÉRIS RÉSISTANT à la réinoculation	NON RÉINOCULÉS
20 c. c.	9	0	9	0	3	6
10 c. c.	5	1	4	0	2	2
5 c. c.	11	3	8	2	3	3
3 c. c.	4	2	2	0	2	0
2 c. c.	3	0	2	0	1	1
1 c. c.	1	0	0	1	0	0

En somme, le sérum de bœuf paraît bien avoir une action préservatrice sur la chèvre, mais elle ne semble ni très grande, ni très générale, ni très prolongée; ce fait n'a rien de surprenant, le sérum d'une espèce animale se montrant toujours moins actif sur les sujets d'une autre espèce que celui provenant d'un sujet de la même espèce.

2° *Sérum antipestique du buffle.* — Il n'a été fait que 4 essais; on a eu 4 morts d'emblée aux doses de 15, 10, 10 et 5 cent. cubes de sérum.

Résultat désastreux, mais tout semblable à celui des essais de ce sérum sur le veau ou sur le bufflon.

Il semble bien que l'organisme du buffle, même résistant à la peste bovine, soit inapte à élaborer des anticorps. Cela rend compte en partie de l'extrême sensibilité de cet animal.

3° *Sérum antipestique de chèvre :*

QUANTITÉ de SÉRUM	NOMBRE des ESSAIS	NOMBRE de MORTS	NOMBRE de GUÉRIS	RÉSISTANT à la RÉINOCULATION	NOMBRE de morts à la RÉINOCULATION	GUÉRIS non RÉINOCULÉS
5 c.c.	4	0	4	3	0	1
1 c.c.	5	3	2	2	0	0

Les 5 essais de 1 cent. cube méritent d'attirer l'attention; en effet, parmi ces animaux, 2 ont été infectés avec 1/2 cent. cube de sang virulent, et ce sont les deux qui ont, non seulement guéri, mais résisté à la réinoculation.

Les trois autres ont reçu *des dilutions* : deux, 1/4.000, et le troisième, 1/1.000 de cent. cube.

Nous pouvons en conclure : 1° que le sérum de chèvre semble plus actif sur la chèvre que le sérum de bœuf, à la dose de 5 cent. cubes, et que si la quantité de microbes diminue considérablement (4.000 fois), il semble que l'on ne puisse impunément diminuer la quantité de sérum à injecter; 2° que, *in vivo*, le sérum paraît devoir agir préventivement, non par action sur l'agent infectant, mais par renforcement de la défense de l'organisme.

Cette déduction, et le fait que le virus pestique est contenu dans certains leucocytes, par conséquent à l'abri des substances actives du sérum, ne permettaient pas de fonder grand espoir sur les résultats de la sensibilisation. Mais on pouvait en tirer la conséquence pratique suivante, en ce qui concerne la vaccination par séro-infection.

Il semble, *a priori*, que l'on ait avantage à réaliser l'infection en injectant mille fois moins de microbes, c'est-à-dire en injectant 1/1.000 de cent. cube de sang, en même temps que l'on injecte *une dose suffisante* de sérum, les quelques heures

qu'emploie le virus à se multiplier suffisamment, permettant au sérum de mieux imprégner l'organisme à vacciner.

Action de milieux non spécifiques sur le virus pestique.

1° Action de l'eau physiologique. — Du sang défibriné virulent est centrifugé; les globules, lavés à plusieurs reprises, sont abandonnés vingt-quatre heures dans une grande quantité d'eau salée, isolés par centrifugation, et ramenés à la concentration du sang par addition d'eau salée.

Sur 4 animaux ayant reçu : l'un 1/2 et 3 autres 1/10 de cent. cube de globules, le premier réagit, mais guérit, et les autres succombent. Il y a peut-être eu là un cas d'immunité naturelle, assez rare chez la chèvre.

2° Action du sérum normal de bœuf. — Le sérum d'un premier bœuf semble exercer une action : 5 cent. cubes de ce sérum non chauffé furent mis en présence de 1/10 de cent. cube de globules virulents, pendant vingt-quatre heures.

Après élimination du sérum, les globules, injectés à une chèvre n° 411, ne lui donnèrent aucune maladie.

La même expérience, pratiquée aux mêmes doses, avec le sérum du même bœuf, mais *chauffé* 1/2 heure à *56°*, donna le même résultat sur un chevreau n° 413 qui n'eut aucune réaction, d'abord, puis succomba à une injection virulente.

Privé ou non d'alexine par chauffage, le sérum non spécifique essayé semblait détruire le virus pestique.

Pour s'assurer si cette propriété était constante avec le sang de tous les bœufs, deux essais furent tentés avec le sérum d'un second bœuf normal.

Dans le premier essai, 3/10 de cent. cube de globules virulents furent soumis à l'action de 15 cent. cubes de ce sérum, non chauffé, et inoculés au chevreau 425. Il eut une *maladie sérieuse*, forte élévation de température, guérit, et présenta l'immunité par la suite.

La seconde fois, 1/10 de cent. cube fut mis en contact avec 5 cent. cubes de ce même sérum, *toujours non chauffé*, puis injecté au chevreau 427, *qui mourut en 13 jours*.

Le sérum non spécifique de bœuf ne détruit donc pas toujours le virus pestique.

3° Sérum normal de chèvre. — 1° *Sérum chauffé* (1/10 de cent. cube de globules soumis à 5 cent. cubes de sérum). — 2 essais, 2 morts en 10 jours.

2° *Sérum non chauffé.* — Même proportion : 1 essai, mort en 8 jours.

De ces expériences sur les sérums normaux on peut conclure :

1° Il n'y a aucune action du sérum non spécifique de chèvre sur le virus pestique *provenant de la chèvre.*

2° Le sérum de certains bœufs normaux peut atténuer ou tuer le virus pestique provenant de la chèvre. Il convenait donc de multiplier les expériences, certaines paraissant indiquer une sensibilisation.

Action des sérums spécifiques.

Première expérience. — On centrifuge du sang défibriné virulent, on lave les globules, puis on remplace le sérum par 1 volume et demi de *sérum non chauffé* antipestique de bœuf, dans un des tubes, par 2 volumes et demi dans le second.

On laisse en contact vingt-quatre heures, on sépare le sérum par centrifugation ménagée, on ramène au volume du sang par de l'eau physiologique.

On inocule 1 cent. cube de globules de chacun des tubes aux chevreaux 291 et 292; un troisième chevreau (293) reçoit 1 cent. cube de globules traité dans les mêmes conditions par l'eau salée.

Les 3 animaux succombent : 291, en 12 jours; 292, en 7; le témoin 293, en 17.

Il n'y a donc eu aucune sensibilisation.

Ce résultat pouvait être attribué à ce que les quantités de sensibilisatrice et d'alexine contenues dans le sérum étaient trop faibles, par rapport au nombre de microbes inoculés. C'est alors que j'ai entrepris les expériences de dilutions, pour savoir à quelle dose le sang cessait d'être virulent.

Recherche des proportions de sérum et de virus.

J'ai ensuite voulu déterminer quelle était la dose de virus (*évaluée en fonction du volume du sang*), détruite par les sub-

stances actives d'un *sérum spécifique complet*, c'est-à-dire muni de sa sensibilisatrice particulière (puisque spécifique), et non chauffé (pour conserver son alexine).

J'ai employé le *sang entier* dilué, de façon à rajouter encore de l'alexine. Le sérum a été le sérum antipestique du bœuf 742, (un des fournisseurs ordinaires), non chinosolé, à la dose de 5 cent. cubes.

Premier essai. — 1 cent. cube de sang virulent est mêlé, dès la sortie de la veine, à 1 litre d'eau physiologique ; on agite, pour bien assurer le mélange, qui prend un aspect louche, d'une rutilance atténuée, uniforme. 1 cent. cube, donc 1/1.000 de cent. cube de sang, est placé, pendant 24 heures, dans 5 cent. cubes de sérum; après agitation, on injecte 1/2 cent. cube du mélange, donc 1/10.000 de cent. cube de sang.

Le 29 août, le chevreau 380 est ainsi inoculé (un témoin, 379, reçut 1/2 cent. cube du même sang et mourut).

Le chevreau 380 n'a *aucune réaction* et, réinoculé le 18 septembre, meurt le 27.

Le 5 septembre, *même expérience*, aux mêmes doses, sur le 382, même résultat (son témoin, 381, inoculé de 1/2 cent. cube, meurt).

Le 12 septembre, même expérience, aux mêmes doses, sur le 384, même résultat. Son témoin, 383, *prend la maladie*, mais ne meurt pas ; son sang a tué 2 animaux, à 1/2 cent. cube, et bien assuré le passage.

Donc le virus de 1/1.000 de cent. cube de sang paraissait bien détruit par 5 cent. cubes de sérum complet.

Deuxième essai. — 1/200 de cent. cube de sang virulent est traité par 5 cent. cubes de sérum. On injecte 1/2 cent. cube du mélange (donc 1/2.000 de cent. cube de sang) au n° 386, qui résiste, et meurt à la réinoculation. (Son témoin 385 reçoit 1/2 cent. cube du même sang, non traité, et meurt en 9 jours). *Le virus de 1/200 de cent. cube de sang semble donc détruit par 5 cent. cubes de sérum.*

Troisième essai. — 1/50 de cent. cube de sang est traité par 5 cent. cubes de sérum; on injecte 1/2 cent. cube du mélange, (donc 1/500 de cent. cube de sang) au 388 qui résiste... et meurt à la réinoculation. (Le témoin — 387 — reçoit 1/2 cent. cube du même sang, prend une maladie grave

et résiste, mais son sang, inoculé à 1/100 de cent. cube, a tué le 390).

J'ai voulu reprendre cet essai aux mêmes doses, en *sensibilisant* simplement le virus, au lieu de le *neutraliser*, donc en éliminant les alexines; j'ai employé des *globules lavés* au lieu de sang complet, et du sérum *chauffé*; au lieu de 1/2 cent. cube du mélange, j'ai injecté 1 cent. cube, par conséquent les globules de *1/250* de cent. cube du sang original, au n° 394.

Comme le précédent, le 394 résiste, mais meurt à la réinoculation.

On pouvait expliquer ce résultat de deux façons :

1° Ou le sérum privé d'alexine détruit la virulence, tout comme le sérum entier;

Ou il y a bien eu sensibilisation, mais le nombre de microbes sensibilisés injectés n'a pas été suffisant pour entraîner la réaction défensive de l'organisme, lors de l'inoculation d'épreuve.

J'augmentai donc progressivement la quantité de virus traité par le sérum.

Quatrième essai. — 1/10 de cent. cube de sang virulent *entier* est traité par 5 cent. cubes de sérum non *chauffé*; on injecte 1/2 cent. cube de mélange, soit environ 1/100 de cent. cube de sang, au n° 390, qui *mourut d'emblée.*

Il semblait que la limite était atteinte, et que 50 cent. cubes de sérum étaient insuffisants pour neutraliser le virus de 1/10 de cent. cube de sang complet.

J'ai repris l'expérience, aux mêmes doses, avec du *sérum chauffé* et des *globules lavés*, pour éliminer l'action de l'alexine. Si des substances actives du sérum entraient en jeu, le virus devrait donc être moins touché que dans le cas précédent, et les animaux devraient succomber.

Il n'en a rien été; à deux reprises, le *24 octobre*, le 396 reçoit 1 cent. cube du mélange, 5 cent. cubes du sérum chauffé, 1/10 de globules lavés (comme j'emploierai fréquemment cette abréviation, je dois ici faire remarquer qu'elle signifie : quantité de globules lavés provenant de 1/10 de cent. cube de sang).

Le 396 présenta une réaction retardée, guérit, et résista à l'inoculation d'épreuve (ses témoins, 295 à l'inoculation, 397 et 401 aux réinoculations, moururent tous).

Le *31 octobre*, sur le 398, expérience identique : résultat identique. Il semblait bien qu'il y avait eu sensibilisation et vaccination consécutive. Je voulus vérifier si le virus d'une plus grosse quantité de globules ne pouvait être sensibilisé par 5 cent. cubes de sérum.

Le *10 octobre*, sur le 392, j'injectai 1/2 cent. cube de mélange : 1/2 cent. cube de sang *entier* dans 5 cent. cubes de sérum non chauffé, donc 1/20 de cent. cube de globules ; le 392 mourut. Donc, il semblait que l'on devait s'en tenir à la proportion : virus 1/10 de cent. cube pour sérum, 5 cent. cubes.

Globules lavés, injectés après élimination du sérum.

1° Sérum de bœuf. — Comme j'avais injecté toujours sérum et virus mélangés, on pouvait m'objecter que les résultats heureux obtenus étaient dus à l'action du sérum sur le sujet, action encore sensible au moment de la réinoculation. C'est pourquoi, dans les expériences qui vont suivre, les inoculations ont été faites après élimination du sérum, en employant presque toujours la proportion que les expériences précédentes portaient à croire favorable : 1/10 de cent. cube de globules pour 5 cent. cubes de sérum, parfois chauffé, parfois non chauffé. Après un contact de 24 heures, le sérum était enlevé par centrifugation ménagée, et les globules injectés dans une quantité connue d'eau salée, de façon à pouvoir injecter soit une fraction de dixième, soit 1 ou plusieurs dixièmes de cent. cube.

Première expérience. — Le n° 406 reçoit ainsi 1/50 de cent. cube de globules, traités au sérum chauffé ; il ne réagit pas et résiste à la réinoculation. Il paraissait donc bien y avoir sensibilisation ; donc une quantité plus grande de globules, traités identiquement, aurait dû vacciner avec plus de certitude ; il n'en fut rien.

Le 402 reçoit de même 1/10 de cent. cube, ne réagit pas, mais succombe à la réinoculation. L'expérience identique, répétée sur le 408 et le 410, aboutit à la même fin. Le résultat heureux, constaté sur les 406 et 408, ne pouvait être attribué à une vaccination réelle.

Deuxième expérience. — Étant donné que, dans les vaccina-

tions de la fièvre typhoïde, du choléra, de la peste humaine, M. Besredka injecte des quantités de microbes sensibilisés bien plus considérables que celles que j'injecte avec 1/10 de cent. cube de globules (les expériences de dilution nous ont montré que *1 cent. cube* contient 25.000 microbes ou groupes de microbes pestiques), il pouvait être avantageux d'augmenter davantage la quantité de globules.

Le 451 reçoit 5/10 de cent. cube de globules, traités par 25 cent. cubes de sérum *chauffé*. Il résista et se montra immunisé à la réinoculation. Je pensai que c'était là un résultat acquis, et que 5/10 était la dose à injecter. Mais, comme 1/10 de cent. cube de globules et 5 cent. cubes de sérum, dans une expérience antérieure, avaient pu tuer, *d'emblée*, le 290, il pouvait se faire que cette proportion soit parfois insuffisante. J'essayai d'augmenter de 2 fois et demi la proportion de sérum; donc 2/10 de cent cube de globules furent traités par 25 cent. cubes de sérum chauffé.

Le 517 ainsi inoculé n'eut rien, mais mourut à la réinoculution. Si la résistance du 517 à l'inoculation première avait été due à la sensibilisation du virus, un animal, injecté avec la même quantité de globules, traités avec du sérum *non chauffé*, aurait dû, *a fortiori*, résister : un tel sérum, contenant sensibilisatrice et alexine, aurait dû détruire le virus, et non seulement le sensibiliser; or son témoin, n° 518, injecté en même temps, aussi avec 2/10 de cent. cube, traités par le sérum *non chauffé*, *mourut d'emblée*.

Ce résultat me parut surprenant. Pensant à une faute de technique, je répétai identiquement cette expérience sur les chevreaux n°s 524 et 525, mais avec du sérum provenant d'un autre animal fournisseur (virus de 2/10 de cent. cube de globules, sensibilisés par 25 de sérum, chauffé dans un cas, non chauffé dans l'autre). Les 2 animaux moururent *d'emblée*.

2° Sérum de chèvre. — Devant ces résultats contradictoires, pensant à une action parfois toxique du sérum de bœuf, j'essayai le sérum antipestique de chèvre qui, *in vivo*, avait eu le meilleur pouvoir préventif. Ces expériences étant parallèles à celles qui précèdent, je serai plus bref.

Le chevreau 430 reçut le virus de 1/10 de cent. cube de globules, sensibilisés par 5 cent. cubes de sérum de chèvre

chauffé. Aucune réaction. Il résista à l'inoculation d'épreuve.

Le chevreau 434 reçut 2/10 de cent. cube traités par 10 cent. cubes de ce sérum. Il n'eut pas de maladie, et mourut à la réinoculation.

Les 521 et 524, chacun 2/10 de cent. cube, traités par 25 de sérum, chauffé pour l'un, non chauffé pour l'autre. Ils moururent *d'emblée* en 8 et 9 jours.

Le 438, 1/10 de cent. cube de globules, 10 cent. cubes de sérum chauffé, meurt *d'emblée* en 10 jours.

Le 445, 5/10 de cent. cube de globules, 25 de sérum chauffé; pas de maladie, résiste à la réinoculation.

Le 448, mêmes doses, meurt *d'emblée* en 14 jours.

En somme, ces résultats contradictoires n'indiquent aucune apparence de sensibilisation : superposables à ceux obtenus par l'emploi du sérum de bœuf normal, il paraît logique de les attribuer à la faible résistance du virus pestique hors de l'organisme. Aux doses essayées, il n'y a donc pas de sensibilisation.

Essais de séro-infection chez le buffle et le bœuf.

Instruit par les expériences de dilution du virus et les essais de sérum tentés sur les chevreaux rapportés ci-avant, j'ai tenté, au cours d'une épizootie de peste bovine, de mettre en œuvre l'expérience acquise.

L'épizootie était moyennement virulente : le village de Nhon-Son, avant l'épizootie, possédait 71 bœufs et 145 buffles. Sauf les prescriptions d'isolement, plutôt mal observées, la maladie fut abandonnée à elle-même : 17 bœufs contractèrent la maladie, 5 moururent; 57 buffles furent pris avec 23 décès.

Dans les six villages où l'on vaccina, la technique employée fut la suivante : les bœufs reçurent, suivant la taille et l'âge, de 40 à 80 cent. cubes de sérum; les buffles, de 100 à 160 (c'est-à-dire environ 50 cent. cubes par 100 kilogs, pour les adultes, et le double pour les jeunes, plus sensibles).

Bœufs et buffles reçurent, indistinctement, 1 cent. cube d'une dilution de sang virulent *à 1 p. 1.000*. Une telle dilution est plus aisée à préparer que du sang défibriné.

Le sujet malade, fournisseur de sang, est piqué dans la jugulaire avec une petite seringue de 2 cent. cubes, et 1 cent. cube de sang est projeté dans 1 litre d'eau salée (chlorure de sodium, 8 grammes; oxalate de soude, 2 grammes), dûment bouillie et refroidie. Je préfère, n'ayant pas encore tenté d'expérience sur la conservation du virus ainsi manipulé, ne me servir de la dilution que pendant une demi-journée, et en préparer le matin en annonçant les vaccinations, puis, après déjeuner, en les reprenant; les indigènes craintifs ont moins peur de voir prélever très peu de sang sur un de leurs animaux. Il n'est pas inutile de ne heurter leurs sentiments que le moins possible. Au bout de quelque temps, les globules rouges tombent au fond de la bouteille; il est donc prudent de la secouer de temps à autre, car je n'ai pas vérifié si les globules blancs porteurs du virus, pourtant plus légers que les hématies, ne faisaient pas de même.

Dans les trois premiers villages, les animaux ont été infectés avec une dilution de *sang apporté du laboratoire*, c'est-à-dire plus virulent que celui de l'épizootie même. Partout, les animaux n'ont été observés que par leurs propriétaires, mauvais observateurs, auxquels des symptômes légers pouvaient échapper, et à qui je ne pouvais confier de thermomètre. Il est infiniment probable que tous les inoculés ont été infectés, beaucoup ne présentant que de l'hyperthermie.

Au village de An-Xuân :

20 *jeunes bovidés vaccinés*	10 paraissent malades,	aucune mort;
45 *bovidés adultes vaccinés*	37 paraissent malades,	aucune mort:
8 *jeunes bubalins vaccinés*	5 paraissent malades,	aucune mort;
87 *bubalins adultes vaccinés*. . . .	70 paraissent malades.	aucune mort.

Au village de An-Nhen :

11 *jeunes buffles vaccinés*.	1 paraît malade,	1 meurt;
34 *buffles adultes vaccinés*	3 paraissent malades,	2 meurent.

Au village de Phuoc-Nhon :

6 *jeunes buffles vaccinés*.	2 paraissent malades,	1 meurt;
71 *buffles adultes vaccinés*	28 paraissent malades,	6 meurent.

Dans les trois autres villages, le virus employé a été celui de *l'épizootie* elle-même.

Au village de Hô-Diêm :

40 *jeunes bovins vaccinés*	6 paraissent malades, aucune mort;
111 *bœufs adultes vaccinés*	20 paraissent malades, aucune mort;
22 *jeunes bubalins vaccinés*	7 paraissent malades, aucune mort:
56 *bubalins adultes vaccinés*. . . .	11 paraissent malades, 1 mort.

Au village de Tri-Thuy :

7 *jeunes bovins vaccinés*.	aucun malade ni mort;
231 *bovins adultes vaccinés*	1 paraît malade, aucune mort;
11 *jeunes buffles vaccinés*	4 paraissent malades, aucune mort;
132 *bubalins adultes vaccinés*	3 paraissent malades, aucune mort.

Au village de Phuong-Cuu :

59 *jeunes bovins vaccinés*	11 paraissent malades, aucune mort;
89 *bovins adultes vaccinés*	69 paraissent malades, aucune mort;
19 *jeunes bubalins vaccinés*.	10 paraissent malades, aucune mort:
70 *bubalins adultes vaccinés*. . . .	22 paraissent malades, 3 morts.

L'épizootie a été complètement arrêtée dans les 6 villages.

Ces résultats me semblent bons, et il serait utile de voir essayer le procédé dans d'autres épizooties, par d'autres expérimentateurs.

Conclusions.

1° La chèvre est un bon sujet d'expérience ; sa sensibilité à la peste bovine est à peu près celle du buffle, en Indo-Chine tout au moins.

2° 1/1.000 de cent. cube de sang virulent constitue une dose sûrement mortelle.

3° 1/25.000 de cent. cube de ce sang est à la limite des doses infectantes.

4° Il en est de même de 1/10 de cent. cube de plasma citraté centrifugé.

5° Le virus de la peste bovine siège surtout dans les leucocytes; il y a quelques formes libres dans le plasma.

6° Il y a environ 25.000 microbes, ou groupes de microbes, par centimètre cube de sang virulent complet.

TABLEAU RÉSUMANT
LES ESSAIS DE SÉRO-INFECTION SELON LA NOUVELLE TECHNIQUE

		EFFECTIF	MALADES	MORTS	OBSERVATIONS
Village témoin, non vacciné.					
NHON-SON.					
Bœufs	Jeunes . . / Adultes. .	71	17	5	
Buffles	Jeunes . . / Adultes. .	145	57	23	
		VACCINÉS	**MALADES**	**MORTS**	**OBSERVATIONS**
Villages vaccinés.					
AN-XUAN.					
Bœufs	Jeunes . . / Adultes. .	20	10	0	(Virus du laboratoire).
Buffles	Jeunes . . / Adultes. .	45	37	0	
AN-NHON.					
Buffles	Jeunes . .	11	1	1	*Idem.*
	Adultes. .	34	3	2	
PHUOC-NHON.					
Buffles	Jeunes . .	6	2	1	*Idem.*
	Adultes. .	71	28	6	
Villages vaccinés.					
HO-DIEM.					
Bovins	Jeunes . .	40	6	0	(Virus de l'épizootie).
	Adultes. .	111	20	0	
Buffles	Jeunes . .	22	7	0	
	Adultes. .	56	11	1	
TRI-THUY.					
Bovins	Jeunes . .	7	0	0	*Idem.*
	Adultes. .	231	1	0	
Buffles	Jeunes . .	11	4	0	
	Adultes. .	132	3	0	
PHUONG-CUC.					
Bovins	Jeunes . .	59	11	0	*Idem.*
	Adultes. .	89	69	0	
Buffles	Jeunes . .	19	10	0	
	Adultes. .	70	22	3	

7° Il y a environ 10 microbes, probablement isolés, par centimètre cube de *plasma* citraté centrifugé;

8° Le virus pestique paraît capable de tuer, à l'unité, les animaux de sensibilité ordinaire.

9° Les expériences de sensibilisation du virus n'ont pas donné de résultat.

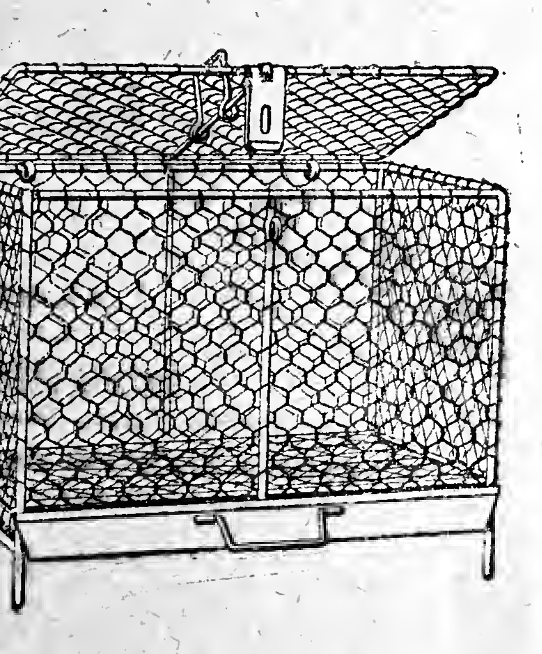
10° Il semble bien que le sérum antipestique agisse sur l'organisme de l'animal injecté, et non sur le microbe lui-même.

11° La séro-infection paraît susceptible de donner de bons résultats chez le buffle, à condition d'injecter une quantité de sérum suffisante (environ 50 cent. cubes par 100 kilogr. chez l'adulte, davantage chez les jeunes), et en infectant avec le moins de virus possible, pour retarder la pullulation du parasite.

Nha-Trang, le 15 mars 1917.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.





Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXXI. — 1917. Décembre. — N° 12.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX



PARIS

MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

PRIX DE L'ABONNEMENT. — France : **22** francs: Union postale : **25** francs ; Prix d'un Numéro : **2** francs.

Secrétaire de la Rédaction : Camille RAVEAU
BIBLIOTHÉCAIRE DE L'INSTITUT PASTEUR
25, RUE DUTOT — PARIS (XVe)

ABONNEMENT. — PRIX DES VOLUMES DES « ANNALES ».

Prix de l'abonnement, à partir de 1918.	France	22 fr.
— — — —	Union Postale.	25 fr.
Prix d'un numéro, — —		2 fr.

Années antérieures. — Les années 1889 et 1890 sont épuisées.

L'année 1892, les années 1897 à 1916 se vendent séparément **18** francs.

Les sept années 1887 (volume I), 88, 91, 93, 94, 95 et 96 ne se vendent qu'ensemble, au prix global de **126** francs.

Tables des Matières, années 1887 à 1906, 1 vol., 6 francs.

SOMMAIRE DU N° 12

BULLETIN

DE LA

Société de Pathologie exotique

Siège de la Société : Institut Pasteur, Paris

Paraît 10 fois par an, 15 jours après chaque séance qui a lieu le 2e mercredi du mois, sauf en août et septembre.

Le volume de 1915, qui atteint 800 pages, avec figures dans le texte et planches hors texte, ne le cède en rien, malgré les circonstances, à ceux des années précédentes.

Prix de l'Abonnement :

France : 18 fr. — Union postale : 20 fr.

31e ANNÉE DÉCEMBRE 1917 N° 12

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

BACTÉRIES DES POUSSIÈRES

par ET. BURNET,

Assistant à l'Institut Pasteur.

L'homme vit dans une atmosphère de poussières, surtout à la ville, mais aussi à la campagne. Elles flottent dans l'air, s'attachent aux mains et aux aliments ; on les respire et on les avale. Aussi est-il toujours intéressant de savoir quels microbes elles renferment. La plupart de ces études sont incomplètes, parce que la flore anaérobie y est négligée, ou tout à fait oubliée : par exemple, on ne peut que regretter cette lacune dans l'excellent travail de Sartory et Langlais (1), sur les poussières et microbes de l'air.

Au cours d'une enquête sur la présence du bacille tuberculeux dans le milieu extérieur, j'ai examiné une quarantaine d'échantillons de poussières et, tout en les éprouvant au point de vue du bacille de Koch, j'ai essayé d'en déterminer la physionomie bactériologique.

Sur 36 échantillons, il y en avait 18 de poussières fraîches, prélevées en des endroits que l'on balaye et nettoie chaque jour, où l'homme passe sans cesse, venant de la rue et y retour-

(1) *Poussières et microbes de l'air*. Paris, 1912.

nant : omnibus, tramways, wagons de chemins de fer, métropolitain et autres, encoignures de trottoirs à la porte d'entrée des maisons ; et 18 échantillons de poussières sèches, provenant du nettoyage, par le vide (*Vacuum cleaner*), d'endroits fréquentés aussi par la foule : théâtres et cinématographes populaires, tapis de salons d'essayage des grands magasins, tapis d'appartements de diverses classes. Les premières poussières participent surtout de la terre et des détritus des rues ; les secondes représentent mieux les poussières atmosphériques qui se sont déposées, se sont desséchées et ont dormi, des mois entiers, dans les tentures et les tapis.

La plupart des inoculations ont été faites avec une grosse quantité de poussières lavées à l'antiformine (à 10-12 p. 100, 20-40 minutes), puis lavées deux fois à l'eau stérile.

Le bacille tuberculeux n'a été révélé par les inoculations au cobaye dans aucun échantillon de poussières de nettoyage par le vide. Il a été trouvé dans 3 des 18 échantillons de poussières fraîches. Il s'agit, dans un cas, de poussière prélevée sur les barreaux supérieurs d'une fenêtre d'un laboratoire de bactériologie, à 3 mètres au moins au-dessus du sol ; et, dans les deux autres cas positifs, de poussières prélevées sur des planchers d'autobus. Les bacilles provenaient évidemment de ces crachats que nos compatriotes s'entêtent à jeter partout, à te point qu'un hygiéniste de notre connaissance, qui fait quotidiennement le même trajet dans un tramway à long parcours, n'est jamais parvenu à voir exempt de crachats le plancher du compartiment de première classe.

La proportion de 2 cas positifs sur 8 prélèvements d'omnibus, est assez forte pour rendre obligatoire la plus élémentaire propreté.

Les 3 bacilles isolés des poussières, essayés en cultures pures sur des séries de cobayes, se sont montrés très virulents ; très virulents aussi pour les singes, à la dose de 1/10.000 de milligramme.

D'aucun de ces 36 échantillons, je ne suis parvenu à isoler le *Proteus*, qui est si répandu dans la nature, comme l'a montré CANTU (1). On comprend qu'il ne soit plus vivant dans les pous-

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXV, p. 852, 1914.

sières vieilles et sèches. Il est plus étonnant qu'on ne l'ait pas trouvé plus souvent dans les poussières fraîches qui participent de la poussière des rues ; il est vrai que le nombre des échantillons examinés n'est pas très considérable. Comme on va le voir, ces poussières renferment les principales bactéries putréfiantes. On peut en conclure que la vitalité du *Proteus* est faible dans les poussières exposées à l'air et à la lumière, et qu'il est facile d'en préserver les enfants, pour lesquels surtout il est dangereux. Metchnikoff a mis en évidence le rôle du *Proteus* dans le choléra infantile, et indiqué de très simples mesures préservatrices : propreté des rues, où ne doit pas séjourner le crottin de cheval ; propreté des aliments, surtout des gâteaux et sucreries, si recherchés des enfants, et que les mouches ensemencent avec les *Proteus* dont leurs pattes se sont souillées dans les détritus des rues et des fumiers; propreté des mains et du mamelon chez les mères et les nourrices. Si le public daigne en tirer parti, ces recherches marqueront un grand progrès de l'hygiène infantile.

Ce qui suit concerne spécialement les poussières sèches du nettoyage par le vide.

Ce sont des poussières très ténues. Comme si elles contenaient des particules grasses, elles ne se mouillent pas facilement; et, pour les bien mettre en suspension, il faut les humecter goutte à goutte, en les triturant avec la baguette de verre, comme on fait pour les bacilles tuberculeux; elles se mouillent mieux avec l'eau salée qu'avec l'eau naturelle. Inoculées au cobaye, sous la peau de la cuisse ou la peau du ventre, ou dans les muscles de la cuisse, à forte dose, elles le tuent souvent avec ces grands œdèmes gélatineux et gazeux que donne une inoculation de terre de jardin, mais il y a des exceptions, et bon nombre de ces inoculations ne tuent pas.

Certains cobayes meurent au bout de 2-3 semaines, très amaigris, avec un abcès au point d'inoculation; l'injection les affaiblit et les expose aux méfaits du diplocoque de la pneumonie des rongeurs. Certains, qui ont survécu plusieurs semaines, et même plusieurs mois, ne sont pas restés absolument indemnes. On trouve souvent, à l'autopsie, des adhérences pleurales sèches, reliquat de lésions bénignes qui ont guéri. Il est difficile d'affirmer que le diplocoque qui sévit en

hiver sur les cages n'y est pour rien : cependant les lésions sont plus fréquentes chez les cobayes qui ont reçu des poussières.

Les poussières ne sont pas toujours très pathogènes, parce que les bactéries y sont très rares. A l'examen direct, sous le microscope, on n'en voit aucune. Des ensemencements même abondants, sur milieux solides, soit sur gélose inclinée, soit en tubes de Veillon, donnent de très rares colonies ; à peu près la moitié des tubes restent stériles. Les quelques colonies que l'on obtient consistent en staphylocoques et streptocoques banaux, en *Subtilis* et *Mesentericus*. Mais l'ensemencement en bouillon permet un « enrichissement » des germes; les anaérobies se développent même en tube ouvert, sous le voile de *Subtilis*, qui ne fait jamais défaut, et parmi les microbes facultatifs. On les obtient facilement par un ensemencement en tubes scellés sur le vide, contenant du lait, du bouillon additionné d'un fragment de blanc d'œuf cuit, de l'empois d'amidon, etc.

Les cultures mettent en évidence les fonctions principales d'une flore bactérienne, et en premier lieu la putréfaction. Le blanc d'œuf est rapidement disloqué et même dissous ; le lait est coagulé; le caillot est dilacéré et digéré; la cellulose (papier des tubes d'Omelianski) est désagrégée et même dissoute; les sucres et l'amidon sont attaqués. Sous l'apparente pauvreté de ces poussières, il y a donc une flore peu abondante, mais variée et très active.

Je n'insiste pas sur les bactéries aérobies : Streptocoques, Staphylocoques, *Megatherium*, *Mycoides*, etc. On en trouve une ample analyse dans le livre de Sartory et Langlais. Le *Subtilis* et les *Mesentericus*, qui dominent, sont plus intéressants, à cause de leur activité protéolytique. On trouve, dans un certain nombre d'ensemencements, le *B. coli* : dans 2 cas a été isolé le *B. fæcalis alcaligenes*. Ce qui est propre à ces poussières, c'est leur flore anaérobie, et, comme on devait s'y attendre de particules qui se sont lentement desséchées, cette flore consiste exclusivement en anaérobies sporulants.

En l'absence du *Proteus*, et à part des *Mesentericus*, les bactéries que l'on isole (en passant des tubes de bouillon à blanc d'œuf aux tubes de Veillon), sont les grands putréfiants, B. de

Welch (*Perfringens* de Veillon), *Sporogenes*, B. tétanique, et derrière eux, les bacilles du groupe III, de Rodella.

Ce sont les *Sporogenes* et les Rodella qui dominent, sans doute parce que leurs spores sont les plus résistantes. Les poussières traitées 1 heure par l'antiformine à 20 p. 100, donnent encore des cultures de *Sporogenes*. Je suis parvenu une fois seulement à isoler le *Putrificus* du type décrit par Bienstock. Tous les bacilles du type *Sporogenes* attaquaient l'amidon et les sucres. De sorte que cette flore de putréfaction paraît manquer de deux de ses agents de première ligne : l'un aérobie, le *Proteus*; l'autre anaérobie, le *Putrificus* de Bienstock.

On pourrait distinguer de nombreuses variétés de *Sporogenes*. Au point de vue extérieur, on voit surtout deux aspects de colonies : les unes grosses, compactes, feutrées, se dissociant difficilement; les autres plus petites, en flocons rayonnants, plus légères. On trouve aussi des colonies très irrégulières, allongées et comme échevelées, en petites flammèches. Si, dans les réensemencements on passe souvent d'une de ces formes à l'autre, c'est sans doute qu'il est difficile d'isoler rigoureusement les bacilles des divers types. Le type *bifermentans*, tel que l'a décrit Tissier, a été trouvé plusieurs fois, avec les dépôts glaireux qui caractérisent ses cultures en bouillon.

Le bacille tétanique a été isolé dans un tiers des cas et, en le cherchant spécialement, on le trouverait encore plus souvent. Aucun des bacilles tétaniques que j'ai isolés de ces poussières ne s'est présenté sous forme de colonies classiques, floconneuses, rayonnant autour d'un centre opaque, plus ou moins pareilles à celles du vibrion septique; mais tous en colonies nuageuses, d'opacité extrêmement légère, dépourvues de centre, à peine visibles si on ne les regarde pas au-dessus d'un fond sombre, grandissant rapidement et remplissant toute la largeur du tube.

L'inoculation des poussières n'est pas toujours suffisante pour affirmer la présence ou l'absence du bacille tétanique, sans doute à cause de sa rareté. J'ai obtenu le bacille tétanique dans des ensemencements d'une poussière qui, dans deux inoculations, n'a pas tétanisé les cobayes. J'ai obtenu une fois des colonies tout à fait pareilles à celles que je viens de décrire, et qui n'ont pas donné le tétanos. S'agissait-il d'un vrai *Putrificus*? Je n'ai pu, malheureusement, en faire l'étude biochimique;

en tout cas, c'est le seul échantillon qui m'aurait donné le bacille de Bienstock. A noter que les inoculations, assez massives, mais lavées avec l'antiformine, faites pour déceler le bacille tuberculeux, n'ont jamais tétanisé les cobayes.

Bien que le vibrion septique soit un microbe habituel de la terre, je dois dire que je n'ai pu isoler une bactérie de ce type qui, à l'état de culture pure, tuât le cobaye, même lorsque je faisais des ensemencements à partir de l'abcès local, du liquide d'œdème sous-cutané et du sang du cœur de cobayes tués par inoculation globale de poussières : la mort dans ces cas doit être l'effet d'associations microbiennes. Ou il n'y avait pas de vibrion septique, ou il n'existait pas avec ses caractères classiques.

Labit et Lafforgue (1), qui ont étudié les microbes de la terre prélevée superficiellement sur le sol aux endroits les plus contaminés par une foire de quartier, à Paris, aussitôt après le départ des forains, n'ont trouvé ni le vibrion septique ni le tétanos. Comme eux je n'ai pas trouvé de vibrion septique pathogène, mais on voit que le bacille du tétanos a été trouvé aisément.

J'ai observé de l'œdème, suivi de nécrose et d'escarre de la peau, après inoculation de bacilles du type *Sporogenes* et du type du bacille de Welch ; ensuite, les cobayes ont guéri. On a probablement affaire à des races affaiblies, parmi lesquelles peuvent se trouver des bacilles plus ou moins parents du vibrion septique.

Je n'ai vu qu'une fois le bacille butyrique; je n'ai pas trouvé d'acidophiles (type Moro et *exilis* de Tissier = type Merechowsky).

Aucun échantillon des bacilles sporulés du groupe III de Rodella n'a attaqué le papier dans les tubes d'Omeliansky.

Cette attaque de la cellulose s'obtient avec presque tous les ensemencements abondants de poussières, mais plus énergique avec les poussières fraîches ou demi-fraîches, qu'avec les vieilles poussières sèches. Elle se produit aussi bien en tubes ouverts (capuchonnés ou non), qu'en tubes scellés sur le vide. L'attaque n'est guère visible qu'au bout de trois semaines ;

(1) *Revue d'hygiène et de police sanitaire*, 20 nov. 1911.

dans certains ensemencements, elle est restée faible comme si quelque cause l'avait arrêtée en route. Il y a, dans les tubes scellés, une très forte tension de gaz. Voici trois bacilles qui, à partir des ensemencements directs en tubes d'Omeliansky, ont été isolés dans des tubes de Veillon :

1. Colonies fines, arrondies. Bacille Gram +, long, mince, effilé aux extrémités, ayant un peu l'aspect des fusiformes. Sur les préparations, disposition irrégulière, désordonnée, en paquets de jonchets. Une partie seulement sporulent tardivement. Un peu de gaz en gélose glucosée. Lait non coagulé, légèrement éclairci à la surface. Blanc d'œuf cuit, non attaqué ; amidon attaqué et vite éclairci.

2. Colonies fines, sans caractère spécial ; un peu de gaz en gélose glucosée. Anaérobies stricts, s'arrêtant loin de la surface ; sur préparation, filament extrêmement fin, interminable, entortillé en paquet de cheveux, Gram + ; réensemencement : on trouve, mêlé au filament, des articles de même calibre, sporulés, plus ténus que les plus fins Rodella. Peut-être deux microbes ? La culture a été perdue et n'a pu être étudiée plus complètement.

3. Anaérobie. Colonies se développant lentement, atteignant, au bout d'une dizaine de jours, 3-4 millimètres de diamètre ; grasses ou muqueuses, tout à fait difficiles à dissocier, à tel point qu'en aspirant avec une pipette, on entraîne plus facilement la colonie tout entière qu'un petit lambeau. Un peu de gaz. Au bout d'une dizaine de jours, une partie des bacilles (Gram +) portent des spores terminales rondes. Les bacilles sont plus gros que les Rodella III, incurvés, à bouts arrondis. Attaque fortement l'amidon. On retrouve de l'acide et pas de sucre. Ne coagule pas le lait.

Le premier et le troisième de ces bacilles, ensemencés en tubes d'Omeliansky après plusieurs repiquages, ont attaqué et désagrégé complètement le papier. Le fait serait très intéressant, si cette attaque était l'ouvrage d'un bacille rigoureusement pur. Mais, bien que l'ensemencement n'ait été fait qu'après une série de repiquages purificateurs, ceux qui ont quelque pratique des anaérobies admettront que je n'aie pas encore la certitude absolue d'avoir ensemencé des microbes purs.

En résumé, dans ces poussières où l'on peut voir comme une quintessence de poussières atmosphériques vieillies, les bactéries sont très peu nombreuses, mais il est facile de les mettre à même de se multiplier, et, grâce aux milieux électifs, de les voir développer plusieurs fonctions importantes, entre autres celles de la putréfaction. L'étude bactériologique des poussières est donc tout à fait incomplète, tant qu'on n'y a pas appliqué

les meilleurs procédés de recherche des anaérobies, et qu'on n'a pas montré, à côté du *Subtilis* et des représentants variés du groupe du *Mesentericus*, les putréfiants tels que le bacille de Welch, les *Sporogenes*, le tétanique et le bacille de Rodella.

Au point de vue de l'hygiène, il y a toujours avantage à préserver nos aliments et nos muqueuses respiratoires des spores du bacille de Welch, des *Sporogenes* et du tétanique. La fréquence du B. tétanique mérite de retenir l'attention. Les poussières, inhalées ou ingérées, peuvent passer dans la circulation lymphatique et sanguine, et s'arrêter dans les tissus. D'après Mc. Crae, qui a soigneusement étudié les poussières siliceuses incrustées dans les poumons des mineurs (mines de Witwatersrand, colonie du Cap), 70 p. 100 de ces particules sont de dimensions inférieures à 1 μ, les autres ont de 1 à 9 μ. Sans parler du danger des poussières qui peuvent souiller une plaie contuse, ne peut-il arriver que des spores tétaniques pénètrent dans l'organisme avec des poussières très fines, et soient la cause de certains cas de tétanos, pour lesquels on ne trouve pas de porte d'entrée ? Les traces de lésions déterminées à distance, chez les cobayes, par des inoculations de poussières, prouvent que ces poussières, sans être immédiatement pathogènes, ne sont pas indifférentes.

Les anaérobies des poussières procèdent de la terre, du fumier, et des matières fécales. Ils sont des éléments ordinaires de la flore intestinale de l'homme et des mammifères qui l'entourent. Ils représentent cette flore en circulation dans l'atmosphère et en instance de rentrer dans un intestin. L'analyse des poussières nous fait connaître une partie du cycle de ces microbes, en particulier des bactéries de la putréfaction, dans la nature. Elle nous montre combien est vaste l'horizon de ces études sur la flore intestinale, qui doivent tant aux recherches initiatrices de METCHNIKOFF.

L'AUTOLYSE DE LA LEVURE ET L'INFLUENCE DE SES PRODUITS DE PROTÉOLYSE SUR LE DÉVELOPPEMENT DE LA LEVURE ET DES MICROBES LACTIQUES

par PAUL VANSTEENBERGE.

I

L'AUTOLYSE DE LA LEVURE

Thenard (1), Pasteur (2) et Duclaux (3) remarquèrent que pendant la fermentation la levure perd en poids et spécialement en azote. Liebig (4) put retrouver cet azote disparu dans le liquide de défermentation.

Ces constatations ont amené à croire que dans la cellule vivante les enzymes protéolytiques opèrent une dégradation continuelle des matières azotées du protoplasme. Cette idée est exprimée par Euler (5) et Lindner par le mot « Endoprotéolyse ».

Un processus analogue est admis pour les hydrates de carbone, notamment pour le glycogène qui sous l'action de la glycogenase Cremer (6), devient du glucose.

A l'encontre de ces dégradations continuelles, on doit considérer pour la cellule en développement, un processus de compensation ou de reconstitution, s'opérant aussi dans la cellule et y produisant par synthèse de nouvelles réserves aux dépens des matières nutritives.

(1) THENARD, d'après EULER et LINDNER. *Die Chemie der Hefe.* 1915, p. 128.
(2) PASTEUR, *Ann. chim. phys.*, 58, p. 401, 1860. *Ibid.*
(3) DUCLAUX, *Thèse*, 1865, Paris. *Ibid.*
(4) LIEBIG, *Liebig Ann.*, 153, p. 1, 1870. *Ibid.*
(5) EULER et LINDNER, *l. c.*, p. 146.
(6) CREMER, *Zeitschr. f. Biologie*, 31, p. 183, 1894; 32, p. 1, 1895. D'après EULER et LINDNER, *l. c.*, p. 142.

Si l'on abandonne la cellule à elle-même les processus de dégradation y continuent, la levure se nourrit aux dépens de ses réserves nutritives et pourra vivre jusqu'au moment où les réserves essentielles seront épuisées.

Après la mort de la cellule, les enzymes continuent leur action de transformation sur les constituants du protoplasme et opèrent « *l'autolyse de la levure* ».

L'autolyse peut être hâtée par tous les facteurs défavorables à la vie de la cellule tels que la haute température, la dessiccation, les poisons. Comme poisons le chloroforme et le toluol se sont montrés bien appropriés à cette fin; beaucoup de corps pourront (1) tuer la cellule, car, à des doses voulues presque tous les corps peuvent agir en poison.

Quelle que soit la méthode d'autolyse employée, on remarque qu'au moment où la levure meurt la cellule perd son eau cellulaire, elle devient par le fait même plus petite et elle transforme son milieu qui, pour la levure pressée forma bloc, en une pâte bien liquide. Au sens figuré du mot, on pourrait appeler ce phénomène « *la liquéfaction de la levure* ».

La condition essentielle de l'autolyse consiste en ce que la levure soit amenée à ce que Beijerinck a appelé l'état nécrobiotique, état tel que la cellule ait perdu son pouvoir de reproduction tout en ayant conservé son activité enzymatique. La liquéfaction est une conséquence de l'autolyse et ne se produit pas dans le cas où la levure a perdu son pouvoir enzymatique. La perte d'eau cellulaire au contraire a lieu lors de la mort de la cellule dans n'importe quelles circonstances. Ainsi, si l'on place dans une boîte de Petri couverte un morceau de levure pressée à la température de 55° C, au bout de 3 à 4 heures il s'écoule du morceau de levure un liquide jaunâtre qui va se poser clair tout autour du morceau de levure, qui lui est resté à peu près dans sa forme primitive. La cohésion entre les cellules est restée parce que les enzymes protéolytiques et peut-être une cytase capable de transformer les matières collantes ont été détruites par la haute température.

(1) Quand on mélange du sucre saccharose cristallisé ou du NaCl cristallisé avec de la levure finement divisée, ou qu'on les triture ensemble, instantanément la cellule de levure perd son eau cellulaire de façon à transformer le mélange en un liquide ou jus épais, trouble, de cellules de levures mortes devenues beaucoup plus petites.

Produits autolytiques.

Les modifications par l'autolyse s'opèrent dans deux sens.

I. — Les matières hydrocarbonées, notamment le glycogène, sont transformées en glucose par la glycogenase ; le glucose au contact de la zymase subit la fermentation alcoolique. On appelle ce phénomène « *l'autofermentation de la levure* ».

Des levures telles que le *Schizosaccharomyces* Pombe ne contenant pas de glycogène ne donnent pas d'autofermentation (1).

Comme produits furent reconnus par Béchamp, Schutzenberger (2) et Destrem : $CO^2 - C^2H^5,OH$, des dérivés hydrocarbonés, de l'acide acétique, et Neuberg (3) et Kerb mentionnent la formation d'aldéhyde acétique. Je ne m'étendrai pas plus sur l'autofermentation.

II. — Les matières azotées subissent sous l'action des enzymes protéolytiques des dégradations qui constituent la *protéolyse*.

Nous connaissons actuellement toute une série de produits protéolytiques dus aux recherches de Béchamp (4), Schutzenberger (5), Destrem (6), Kossel (7), Kutscher (8), notamment : leucine, carnine, xanthine, hystidine, arginine, lysine, guanine, tyrosine, adenine, hypoxanthine, acide glutannique, guanidine, tétraméthylamine, acide aspartique, choline ; par Schenk (9), fut identifié le tryptophane et par Effront (10), l'aldéhyde formique et l'alcool isoamylique, ce dernier provenant probablement de la décomposition ultérieure de la leucine d'après Ehrlich (11) :

$$\begin{matrix} CH^3 \\ CH^3 \end{matrix} \rangle CH - CH^2 - CHNH^2 - COOH + H^2O =$$

$$= \begin{matrix} CH^3 \\ CH^3 \end{matrix} \rangle CH - CH^2 - CH^2OH + CO^2 + NH^3.$$

(1) Beijerinck, *Livre jubilaire van Laer* 1913, p. 128.
(2) D'après les citations de Kohl, *Die Hefepilze*, 1908, p. 226-228.
(3) Neuberg et Kerb, d'après Tuler et Lindner, *l. c.*, p. 145.
(4) D'après les citations de Kohl, *Die Hefepilze*, 1908, p. 226-228.
(5) (6) (7) (8) (9) (10) *Ibid.*
(11) Ehrlich, *Biochem. Zeitschr.*, t. I, p. 8, 1906 ; t. II, p. 52.

Comme principaux produits furent mentionnés par Lafar (1), Kohl (2) et Schenk (3), la leucine et la tyrosine. Ces auteurs ont travaillé avec des macérations aqueuses de levure et obtinrent la cristallisation de tyrosine et de leucine dans la masse évaporée par l'autolyse de 4 kilogrammes de levure pressée. Schenk put obtenir 20 grammes de leucine et 15 grammes de tyrosine.

Enzymes actives pendant la protéolyse.

Il est vraisemblable que pour des transformations aussi diverses il entre en jeu un complexe d'enzymes encore mal connues à ce jour. En 1900, Hahn (4) et Geret ont montré dans la levure l'existence de trypsine. D'après les recherches de plusieurs auteurs on doit y admettre aussi la pepsine et l'érepsine. En 1904, Shiga (5) y a identifié l'arginase.

Hahn a retrouvé le complexe d'enzymes protéolytiques dans l'extrait de levure de Buchner-Hahn et l'a nommé dans son ensemble « *endotryptase* », l'estimant différent de la trypsine par le fait que l'endotryptase de la levure agit mieux en solution légèrement acide notamment à une acidité de 6 cent. cubes HCl nm. p. 100.

Pour ma part, sur gélatine acide (6 cent. cubes HCl nm. p. 100) et sur gélatine alcaline (6 cent. cubes Na^2CO^3nm. p. 100), je n'ai pu constater de différence sensible entre l'action d'une solution saturée de trypsine d'une part et d'une solution saturée d'endotryptase de la levure d'autre part.

L'endotryptase de la levure quitte la cellule après la mort de celle-ci. On en trouve la preuve dans le fait que la levure vivante ne liquéfie pas la gélatine, alors que la levure autolysée ou tuée par le chloroforme le fait après quelques heures à la température ordinaire. Ceci nous explique aussi pourquoi des levures restant longtemps vivantes sur moût gélatiné ne

(1) Lafar und Hahn, Lafar, Kap. 20, Bd 4.
(2) Kohl, *Die Hefepilze*, 1908.
(3) Schenk, d'après Kohl, *l. c.*, p. 229.
(4) Hahn et Geret, *Zeitschr. f. Biolog.*, Bd XXII, p. 117, d'après Euler et Lindner, *l. c.*, p. 128.
(5) Shiga. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, Bd 42, p. 505, d'après Kohl, *l. c.*, p. 102.

liquéfient la gélatine qu'après des mois, alors que des levures moins résistantes produisent la liquéfaction en un temps plus court. Celles qui forment rapidement des spores liquéfient aussi vite la gélatine, car l'accroissement des spores entraîne la mort de la cellule-mère. Chez le *Schizosaccharomyces octosporus* Beijerinck, c'est le cas déjà. Vu la nature de l'enzyme qui au fond n'est que du protoplasme (1), il n'est pas à supposer que la quantité d'enzyme pourrait augmenter pendant l'autolyse, le contraire serait plus admissible. J'ai comparé l'action protéolytique d'une levure autolysée d'une part avec celle d'une levure tuée par des vapeurs chloroformiques d'autre part, et je n'ai pu constater aucune différence dans leur pouvoir liquéfiant.

En dehors des enzymes protéolytiques, *une amidase* fait sentir son action pendant la protéolyse. Effront (2) a le premier fait remarquer la formation d'ammoniaque; de même que plus tard Palladin (3) et Ivanoff.

Pour éviter toute cause d'erreur, il va de soi qu'il faut opérer avec de la levure pure. J'ai employé de la levure de bière pure mise dans une boîte de Petri à la température de 35°. La levure mise en expérience donnait primitivement avec le réactif de Nessler une très légère coloration jaunâtre. Cette coloration à la réaction augmenta continuellement, mais sans jamais atteindre de l'intensité. Ce qui est remarquable et inattendu, vu que le milieu pendant la protéolyse augmente d'acidité, c'est que les gouttes de liquide condensées à la surface inférieure du couvercle de la boîte de culture donnent une forte réaction avec le réactif de Nessler. De l'ammoniaque a donc dû pouvoir s'échapper au moment même de sa formation à la surface du liquide. L'ammoniaque ainsi formée pendant la protéolyse sera probablement due à la même réaction qui produit l'alcool amylique aux dépens de la leucine.

(1) Beijerinck, *Verslag der koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam*, Deel XXV, p. 1232, 1917.

(2) Effront, *loc. cit.*

(3) Palladin et Iwanoff, *Biochem. Zeitschr.*, 42, p. 325, 1912. D'après Euler et Lindner, p. 148.

Méthodes d'autolyse.

Mes essais d'autolyse ont été faits avec de la levure pressée telle quelle sans addition d'eau. Un morceau de levure de 2 à 3 centimètres d'épaisseur est placé dans une boîte de culture à différentes températures.

J'ai expérimenté comparativement avec de la levure de bière de la brasserie « d'Oranjeboom », à Rotterdam et avec de la levure de la « Nederlandsche Gist & Spiritusfabriek », à Delft.

A toutes les températures inférieures à 53°, les phénomènes caractéristiques de l'autolyse se manifestèrent en un espace de temps variable avec la température, et d'autant plus court que la température est plus élevée (1).

La meilleure température d'autolyse sera la plus haute possible se rapprochant de la température optima de l'endotryptase.

L'optimum pour l'endotryptase se trouve d'après mes essais entre 45 et 50°, et le maximum à 53°.

Je laisse suivre ici les observations pour l'*autolyse de la levure à* 45°.

Après deux heures d'autolyse, le filtrat d'une légère dilution aqueuse de la levure se coagule par la chaleur. Cette coagulation doit être produite par des matières azotées ayant passé par la membrane cellulaire et n'ayant pas encore ou très peu subi de protéolyse ; on a donc affaire ici à une matière albuminoïde semblable à l'albumine de l'œuf.

Au moment de la mort de la cellule les matières azotées, diffusibles à travers la membrane cellulaire devenue perméable, quittent la cellule de même que l'endotryptase, et seulement les matières azotées indiffusibles, soit en raison de leur grandeur moléculaire ou pour une autre cause, restent encore dans la cellule où elles seront aussi attaquées par les enzymes protéolytiques; c'est le cas pour la zymase, qui ne quitte la cellule que lorsque la membrane est déchirée (2).

(1) Plus la température est élevée, plus vite se produit la mort de la cellule et avec elle l'autolyse; la température doit cependant être telle qu'elle conserve une activité énergique de l'endotryptase. Ces deux *desiderata* se réalisent le mieux à 48-49°, température qui de plus est recommandable pour un second motif que j'exposerai plus loin.

(2) Beijerinck et Van Hest, *Folia microbiologica*. Heft 2, 1916.

Après 18 à 20 heures la levure est complètement liquéfiée, et après 48 heures le filtrat ne donne plus qu'un faible trouble à l'ébullition, ce qui prouve que la dégradation de toutes les matières azotées s'est poursuivie au delà du stade albumine.

Ces résultats ne sont qu'une confirmation des travaux de Kohl (1). Ce même auteur a aussi appliqué comme contrôle la réaction de Millon qu'il a remarquée devenir plus intense à mesure que la protéolyse avance.

Aspect de la cellule. — Après la liquéfaction de la levure, la cellule est devenue de forme irrégulière, ratatinée, plasmolysée, notablement plus petite. La vacuole contient un ou plusieurs corpuscules réfringents de forme variable, sur la nature desquelles on n'est pas encore édifié.

Réaction du milieu (2). — L'acidité de la levure augmente jusqu'à un certain maximum. Un échantillon de levure de distillerie atteignit 25,6 cent. cubes nm. p. 100 après vingt-quatre heures. Deux échantillons de levure de bière pure accusèrent, à 35° :

	AU TOURNESOL	A LA PHÉNOLPTHALÉINE
	—	—
Après 6 jours	10	17,8
Après 12 jours	11,2	20,8
Après 14 jours	13,6	22,6

Cette acidité doit être attribuée à la formation d'amines et amides acides.

Cristallisation de la tyrosine (3). — Après la liquéfaction, il commence à cristalliser de la tyrosine dans toute la masse sous forme de petites boules blanches ressemblant à la surface du

(1) Kohl, *Die Hefepilze*, p. 229.

(2) L'acidité est exprimée par le nombre de centimètres cubes de KOH normal nécessaires à la neutralisation de 100 cent. cubes de levure autolysée. Cette mesure est également adoptée pour les dosages d'acidité mentionnés dans la suite.

La grande différence d'acidité pour la phénolpthaléine et le tournesol trouve son explication dans le fait que les amides acides se comportent différemment vis-à-vis des 2 indicateurs. Ainsi, 0 gr. 5 d'asparagine demande pour la neutralisation 1,7 cent. cube KOH 1/10 nm. au tournesol, et 13,1 cent. cubes KOH 1/10 nm. à la phénolphtaléine.

(3) La tyrosine fut caractérisée entre autres par l'action de la tyrosinase qui transforme la tyrosine en mélanine. Le latex de l'*Euphorbia lathyris* fut employé comme préparation contenant de la tyrosinase.

milieu à des colonies bactériennes blanches élevées. Ces boules sont constituées par un mélange de tyrosine et de cellules de levure. Il va sans dire que la cristallisation est favorisée et hâtée par l'évaporation, en enlevant le couvercle de la boîte de culture après liquéfaction. La cristallisation se fait cependant aussi, mais plus lentement dans le liquide non évaporé, ce qui prouve qu'à un certain moment le liquide est sursaturé de tyrosine. Grâce à la quasi-insolubilité de la tyrosine dans l'eau, il est possible, dès que la cristallisation est suffisante (ce qui correspond au commencement du durcissement de l'autolysat, de séparer les sphérites de tyrosine du reste de la masse autolysée.

Il suffit de reprendre par de l'eau, de triturer de façon à obtenir un mélange homogène sans conglomérats qui pourraient soustraire les cristaux au contact de l'eau. Le liquide est versé dans un vase cylindrique ou un vase conique effilé vers la base où, grâce à leur poids, les cristaux se déposent rapidement. Après quelques lavages et décantations, on parvient à avoir les cristaux tout isolés. L'action mécanique et chimique permettront facilement la séparation de cellules de levure de la tyrosine.

Causes perturbatrices de l'autolyse.

La cristallisation de la tyrosine peut servir de base d'appréciation pour la bonne fin de l'autolyse, de même que l'acidité donne des indications pendant celle-ci.

Il y a en effet des causes entravantes telles qu'une température supérieure à 53°, ou toute cause inactivant le pouvoir enzymatique du protoplasme. Il y a aussi des causes perturbatrices, telle la présence dans la levure de microbes s'attaquant aux produits protéolytiques.

A différentes températures, entre 15 et 45°, il m'est arrivé qu'il se produisit dans la levure de distillerie soumise à l'autolyse une putréfaction d'une odeur repoussante; il y eut production d'ammoniaque et d'acide sulfhydrique. La réaction du milieu qui augmenta d'abord en acidité perdit plus tard cette acidité progressivement et devint alcaline.

A l'évaporation, la masse qui s'était liquéfiée comme par autolyse normale ne donna pas de cristallisation de tyrosine, mais laissa à la place de celle-ci, après lavage, des cristaux de NH^4MgPO^4. Il fallut donc supposer qu'entre autres la tyrosine avait subi la dégradation jusqu'en NH^3.

Pour parvenir à connaître l'agent de la putréfaction, je fis avec milieu putréfié une culture en stries sur du bouillon de viande à l'agar-agar. A côté de colonies de ferments lactiques qui ne se développèrent que très peu, je pus facilement isoler un microbe qui, à l'examen physique et physiologique, se montra avoir tous les caractères des microbes du groupe *B. coli*.

Ce *B. coli* fut ensemencé dans le milieu suivant :

Eau de la ville	100
Glucose	2
Tyrosine.	0,02
K^2HPO^4	0,05
$MgSO^4$.	0,2

De plus, il fut ensemencé dans le même milieu légèrement alcalinisé pour dissoudre un peu plus de tyrosine et pour favoriser le microbe par la réaction du milieu.

J'obtins dans les deux milieux, et plus rapidement dans le milieu alcalinisé, la production d'ammoniaque et dès lors la transformation de tyrosine en NH^4MgPO^4 telle qu'il se produisait dans la levure putréfiée. Il fallut chercher le moyen de dominer ce microbe, et celui qui me parut le premier digne d'examen fut l'augmentation de la température.

Avec de la levure de distillerie, qui procura la putréfaction décrite, je fis les expériences suivantes : un essai fut fait à 45°, un autre à 50°. L'acidité fut suivie pendant l'opération et donna, exprimée en cent. cubes nm. p. 100 (avec la phénolpthaléine comme indicateur) :

APRÈS	A 45° LIQUÉFACTION complète après 24 heures	A 50° LIQUÉFACTION complète après 18 heures
—	—	—
24 heures	25,6	25,6
42 heures	24,8	*Id.*
68 heures	13,2	*Id.*
92 heures	Réaction alcaline	*Id.*

A 45° il n'y eut pas cristallisation de tyrosine, mais formation de NH^4MgPO^4, alors qu'à 50° la cristallisation de tyrosine

se fit très bien et l'autolyse commença plus vite, puisqu'à 50° la cellule meurt rapidement.

A 48°, avec la même levure et d'autres échantillons, la protéolyse put, pour tous les essais, être menée à bonne fin.

Les nombreux ferments lactiques se trouvant dans les levures de distillerie ne constituent aucun obstacle à l'autolyse ; d'ailleurs ceux qui résistent au début à 48-49°, tels que le microbe acidificateur des distilleries (*B. Delbrucki*) et le *Pediococcus acidi lactici* Lindner se développent très peu aux dépens des produits autolytiques de la levure.

Les levures de brasserie sont beaucoup plus pures (1) et pour ce motif on peut, dans la plupart des cas, en entreprendre l'autolyse à plus basse température ; mais par précaution on les traitera de préférence comme les levures de distillerie.

Je recommande la MÉTHODE D'AUTOLYSE A LA TEMPÉRATURE DE 48-50°. Je décris ici les phénomènes s'observant pour une levure de distillerie soumise à la température de 48-49° :

Après une heure d'autolyse, le filtrat de la levure légèrement diluée donne une coagulation au chauffage.

Après 2 heures, la masse mouillée a un aspect de moindre cohésion ; beaucoup de cellules se colorent au bleu de méthylène.

Après 4 heures, toutes les cellules sont mortes, et la masse est devenue pâteuse ; l'extrait aqueux donne un précipité au chauffage.

Après 7 heures, un liquide jaunâtre s'est écoulé de la masse défaite de levure et baigne celle-ci.

Après 23 heures, la liquéfaction est complète et le mélange du liquide avec la levure est homogène ; il n'y a pas de cohésion entre les cellules qui se trouvent toutes isolées, et, pour ainsi dire, dépourvues de protoplasme.

Le chauffage du filtrat ne produit plus qu'un très léger trouble, une opalescence.

(1) Les levures de distillerie contiennent, en dehors d'une quantité appréciable de différentes bactéries lactiques, les habitants naturels des extraits végétaux sucrés et fermentés, parmi lesquels régulièrement l'*Oïdium lactis*, les mycodermes, les bactéries acétiques et en plus des infections éventuelles. La levure de bière au contraire se montre dans la plupart des cas peu souillée.

Réaction de Millon : J'ai fait cette réaction avec la levure fraîche et avec la levure autolysée à différents stades :

Extrait de levure fraîche à l'eau froide. — Coloration rose (1).

Levure fraîche $+ H^2O$. — Coloration rose foncé de la levure et rose du liquide.

Levure après 2 heures d'autolyse. — Coloration plus intense ainsi qu'un précipité rose.

Levure après 4 heures d'autolyse. — Coloration rose encore plus intense et précipitation plus forte.

Levure après 7 heures d'autolyse. — Coloration rose rouge, plus grand précipité.

Levure après 23 heures d'autolyse. — Coloration rouge foncé avec grand précipité.

Acidité (à la phénolphtaléine) :

Acidité initiale de la levure.	7,02 c.c. nm.	p. 100
Acidité après 7 heures d'autolyse.	17,05 c.c. nm.	—
Acidité après 23 heures d'autolyse	24,6 c.c. nm.	—

Ces connaissances nécessaires de l'autolyse proprement dite étant acquises, j'ai tâché, dans une seconde partie de ce travail, d'établir la valeur nutritive de l'autolysat de la levure comparativement à celle de l'eau de levure non autolysée.

II

INFLUENCE DES PRODUITS AUTOLYTIQUES AZOTÉS SUR LE DÉVELOPPEMENT DE LA LEVURE ET DES MICROBES LACTIQUES

L'eau de levure se fabrique généralement en faisant bouillir de la levure dans l'eau. Il paraît *a priori* évident que la plus grande partie des matières azotées de la levure doit être précipitée dans la cellule, et qu'une partie relativement petite seulement de l'azote cellulaire passera en solution dans l'eau.

L'eau de levure autolysée sera indubitablement plus riche en azote ; mais il importe de savoir si cet azote autolytique sera de qualité appropriée à la vie des microbes. Les résultats

(1) La faible réaction de Millon fut due dans ce cas à l'autolyse en marche dans 4-5 p. 100 de cellules mortes qui se trouvèrent dans la levure qui servit à l'expérience.

obtenus par les expériences suivantes ne laissent aucun doute sur ce point (1).

Eaux de levures employées.

1. Préparation. — Il fut préparé 3 eaux de levure différentes, avec la même levure de distillerie.

Je les désignerai respectivement par E. L. I — E. L. II*a* = E. L. III*a* (l'indice *a* pour indiquer qu'on a à faire à de l'eau de levure autolysée).

E. L. I : 100 grammes de levure sont additionnés de 500 cent. cubes de H^2O; le tout est stérilisé à l'autoclave pendant 15 minutes à la température de 120°, et filtré.

E. L. II*a* : 100 grammes de levure, préalablement autolysée pendant 7 heures à 48-49°, sont additionnés de 500 cent. cubes de H^2O et le tout est traité comme E. L. I.

E. L. III*a* : 100 grammes de levure préalablement autolysée pendant 23 h. à 48-49°, sont additionnés de 500 c. c. de H^2O, etc.

Ces 3 opérations produisirent chacune 585 c. c. de liquide.

2. Caractères des liquides filtrés. — a) *Aspect* :

E. L. I. — Coloration jaune pâle, opalescente.
E. L. II*a*. — Coloration jaune foncé, à peu près claire.
E. L. III*a*. — Coloration brunâtre, clair.

La coloration plus foncée pour les eaux de levure autolysée ne doit pas provenir des produits directs de la protéolyse, mais doit probablement être attribuée à une action oxydasique. Les milieux autolysés non évaporés se foncent de plus en plus et finissent par devenir noirs. En même temps, il se produit une odeur particulière qui se laisse déjà bien sentir dans E. L. III*a*.

b) Le *goût* laisse reconnaître immédiatement la plus grande concentration des eaux de levure autolysée; il est le plus fort pour E. L. III*a*, qui paraît aussi un peu plus salée.

(1) Les ouvrages spéciaux (entre autres, Kohl : *Die Hefepilze* p. 158) citent les recherches de plusieurs auteurs au sujet de la valeur nutritive des produits autolytiques de la levure. La conclusion est qu'ils regardent comme très assimilables par la levure la leucine, la tyrosine, l'acide aspartique et l'adénine. Ehrlich qualifie la leucine et l'isoleucine d'aliments de choix pour la levure.

c) *Densité* :

E.L.I	1,0058
E.L.II*a*.	1,0088
E.L.III*a*	1,0112

d) *Dosage de l'azote total* (*Kieldahl*). — En même temps fut faite comparativement l'analyse d'un extrait de malt de 10° Balling et d'un extrait de viande (20 grammes de viande + 100 cent. cubes H^2O) qui avait été additionné de 0 gr. 5 p. 100 de peptone de Witte.

	N par 100 cent. cubes	EN MATIÈRES azotées CORRESPONDANTES	MATIÈRES AZOTÉES extraites rapportées à la LEVURE SÈCHE
E.L.I.	0 gr. 097	0 gr. 685	16,05 p. 100
E.L.II*a*.	0 gr. 28	1 gr. 75	40,95 —
E.L.III*a*	0 gr. 3399	2 gr. 12	49,56 —
Extrait de malt. . .	0 gr. 146	0 gr. 912	—
Extrait de viande .	0 gr. 21	1 gr. 31	—

Ces chiffres nous apprennent que par la méthode de préparation ordinaire 1/3 seulement de l'azote de la levure passe dans l'eau de levure, alors que la quantité d'azote soluble augmente avec le temps d'autolyse jusqu'au moment où toute l'albumine a été transformée en des produits solubles non précipitables par l'ébullition. Il est important de noter qu'après 23 heures d'autolyse, tout l'azote de la levure a été transformé en N soluble. La levure sèche peut, en effet, contenir jusqu'à 47 à 50 p. 100 de matières azotées.

e) *Réaction de Millon.* — Pour avoir une première idée de la qualité des matières azotées des eaux de levure, je fis comparativement avec les milieux ci-dessus la réaction de Millon pour quelques matières azotées différentes. Environ 10 cent. cubes de la solution à examiner furent additionnés de 5 gouttes de réactif de Millon et chauffés à l'ébullition.

Albumine. — Coloration jaune rose.
Fibrine. — Coloration jaune rose.
Caséine. — Coloration jaune rose.
Peptone. — Coloration rose en solution diluée. Coloration rouge pâle, avec précipité en solution concentrée.
Asparagine. — Pas de coloration; précipité blanc, se dissolvant à chaud.
Acide glutamique. — *Idem.*

Leucine. — Rien.
Tyrosine. — Coloration rouge intense immédiate, avec fort précipité rouge foncé ; le liquide reste d'un beau rouge.
Glycocolle. — Rien.
Urée. — Rien.
E. L. I. — Coloration rose, avec précipité rose foncé.
E. L. II*a*. — Coloration rouge foncé, avec précipité rose foncé.
E. L. III*a*. — Coloration rouge très foncé, avec précipité rouge foncé.
E. L. IV*a*. — Coloration rose foncé, avec précipité rose foncé.
E. L. IV. — Sphérites. — Coloration rouge, avec précipité rouge-rose de tyrosine.
Sphérites de tyrosine. — Coloration rouge très foncé, avec précipité rouge foncé.
Extrait de malt. — Coloration rouge foncé, avec précipité rose foncé.
Bouillon de viande. — Coloration jaune rosâtre, avec précipité rosâtre.

La réaction de Millon caractérise surtout la tyrosine. Il est intéressant de remarquer que le moût donne une réaction analogue à celle des eaux de levure autolysée, ce qui ferait supposer qu'il y a quelque analogie aussi dans leur constitution azotée. E. L. IV*a*, qui est faite avec de la levure autolysée dont les cristaux sphérites de tyrosine ont été enlevés, ne donne plus la coloration rouge foncé et la donne de nouveau, si on ajoute les cristaux de tyrosine enlevés préalablement de son milieu.

Ce fait confirme l'idée que le moût contiendrait des matières azotées analogues à certains produits autolytiques, notamment de la tyrosine. Cette substance jouerait-elle dans la valeur de ces liquides nutritifs un rôle jusqu'ici mal connu?

Remarquons encore la réaction bien différente du bouillon de viande, qui montre la présence de matières azotées de toute autre nature. Nous allons voir que ces essais de coloration donnent bien quelques indications sérieuses et sont bien en concordance avec les résultats qui vont suivre plus bas.

La réaction du biuret donna pour :

E. L. I. — Coloration rose bleuâtre, avec précipité léger.
E. L. II*a*. — Coloration rose, avec précipité plus petit, tellement léger qu'il reste en suspens dans le liquide.
E. L. III*a*. — Coloration très légèrement rose, pas de précipité.
Moût. — *Idem*.
Bouillon de viande. — Coloration rose avec petit précipité léger, qui reste en suspens dans le liquide.

Ici aussi se manifeste l'analogie de réaction entre E. L. III*a* et l'extrait de malt.

Détermination de la valeur nutritive comparative des eaux de levure autolysées et non autolysées pour les microbes.

Deux genres d'expériences furent entreprises à cette fin.
A. — *Avec la levure haute de brasserie.*
B. — *Avec 2 ferments lactiques différents.*

A. — Levure haute de brasserie.

Il importe de se rendre compte de la qualité des constituants azotés de chaque eau de levure, tout en ne perdant pas de vue sa composition quantitative en azote. A cette fin, j'ai opéré avec 3 concentrations différentes de chaque eau de levure :

1° Eau de levure telle qu'elle, que je désigne par E. L.
2° Eau de levure, diluée de moitié (50 p. 100 E.L. + 50 p. 100 H^2O), désignée par E.L. 1/2.
3° Eau de levure diluée de 5 fois son volume (20 p. 100 E.L. + 80 p. 100 H^2O) E.L. 1/5.

De cette façon j'obtiens 9 milieux dont j'indique ici la désignation et la coloration :

E.L.I. — Jaune pâle.
E.L.I/2. — Jaune pâle, légère.
E.L.I/5. — Trace de jaunâtre.
E.L.II*a*. — Jaune foncé.
E.L.II*a*/2. — Jaune pâle, quelque peu moins foncée que E.L.I.
E.L.II*a*/5. — Jaunâtre, un peu plus légère que I/2.
E.L.III*a*. — Brune jaunâtre.
E.L.III*a*/2. — Jaune pâle (*idem* E.L.I).
E.L.III*a*/5. — Jaunâtre, à peu près comme E.L.I/2.

Chacun des milieux fut additionné de 10 p. 100 de saccharose ; l'ensemencement se fit avec une goutte de levure haute, pure, diluée dans un peu d'eau distillée stérile, et les matras furent placés dans un thermostat à 30°. Comme base d'appréciation je mesurai à des moments déterminés l'atténuation apparente produite dans les liquides. Je me rendis compte aussi du développement de la levure.

Après 24 heures, la multiplication s'est bien faite dans tous les milieux, mais a atteint pour les concentrations correspon-

dantes de chaque E. L., les valeurs les plus fortes pour E. L. III*a*, puis pour E. L. II*a* et les plus faibles pour E. L. I, à tel point que la quantité de levure en E. L. III*a*/5 paraît aussi forte qu'en E. L. I et que le développement en E. L. III*a*/5 correspondrait à celui en E. L. I/2 :

En E. L. I la fermentation commence déjà à produire une petite mousse à l'agitation du liquide; pour E. L. II*a* et E. L. III*a* cette mousse est déjà forte.

Dans le tableau 1 ci-dessous sont condensés les résultats de ces expériences.

Pour faciliter le jugement, j'ai compris dans le tableau I la composition azotée quantitative correspondante pour chaque concentration en E. L.

Tableau I.

MILIEUX	AZOTE N p. 100	DEGRÉ BALLING primitif	APRÈS 24 HEURES, A 30° ET 40 HEURES, A 20°		APRÈS 6 JOURS A 30°	CELLULES par 1 c. c.
			DEGRÉ BALLING apparent	ATTÉNUATION apparente	DEGRÉ BALLING apparent	
E. L. I.........	0 gr. 110	11°	3°6	69,1 p. 100	— 1° (sucre disparu)	
E. L. I/2......	0 gr. 055	10°2	4°1	59,8 p. 100	*Id.*	
E. L. I/5......	0 gr. 022	10°2	7°2	29,4 p. 100	0 (sucre non disparu)	26.800.000
E. L. II*a*......	0 gr. 28	11°4	2°8	75,4 p. 100	— 1°5 (sucre disparu)	
E. L. II*a*/2...	0 gr. 14	10°9	1°8	83,5 p. 100	*Id.*	
E. L. II*a*/5...	0 gr. 056	10°1	2°1	79,2 p. 100	*Id.*	40.000.000
E. L. III*a*.....	0 gr. 34	11°8	3°2	72,9 p. 100	0 (sucre non disparu)	
E. L. III*a*/2..	0 gr. 17	10°8	1°5	86,1 p. 100	— 1°5 (sucre disparu)	
E. L. III*a*/5..	0 gr. 068	10°4	1°5	85,6 p. 100	*Id.*	52.000.000

Ces résultats imposent deux conclusions importantes :

1° La qualité de l'azote est indiscutablement supérieure dans l'eau de levure autolysée et d'autant plus que l'autolyse a été plus complète (1).

2° La qualité supérieure de l'azote pour les eaux de levure autolysée se fait valoir fortement accrue dans les dilutions et surtout dans la plus grande dilution 1/5. En jetant un coup d'œil sur les chiffres d'atténuation pour E. L. II*a* et E. L. III*a* on peut se convaincre que l'atténuation augmente en raison inverse de la quantité d'azote (évidemment jusqu'à une certaine limite). Pour E. L. I, au contraire, l'atténuation augmente en raison directe de la dose d'azote.

Ces faits pour l'autolysat de levure aux concentrations citées s'expliquent en admettant que parmi les produits autolytiques il s'en trouve qui sont défavorables à la levure, et dont l'action nuisible disparaît en plus grande dilution et se change même en effet favorable.

Remarquons encore que, dans les trois essais où je me suis rendu compte du nombre de cellules de levure produites, la fermentation produite a été en raison directe de ce nombre de cellules.

Les résultats ci-dessus confirment complètement l'impression que me fit la réaction de Millon sur la possibilité de concordance en nature azotée de la levure autolysée et de l'extrait de malt.

Il faut se demander si la tyrosine, pour laquelle la réaction de Millon est surtout caractéristique, constitue un produit important sur la qualité nutritive de ces milieux.

Je fis une quatrième eau de levure (E. L. IV*a*) de la façon suivante :

100 grammes de levure pressée de distillerie sont soumis à l'autolyse à 48-49° pendant 4 jours de façon à renforcer si possible la formation et la cristallisation de la tyrosine ; — le liquide est évaporé jusqu'à ce que le résidu soit plus ou moins dur ; les cristaux de tyrosine sont isolés du reste de l'autolysat de la façon décrite plus haut.

(1) On verra plus loin, que c'est aussi le cas pour une eau de levure E. L. IV*a*, qui provient d'une levure dont l'autolyse a été prolongée pendant 4 jours, à 48-49°.

Le liquide de macération et les eaux de lavage, purgés des cristaux de tyrosine, sont portés au volume de 593 cent. cubes(1). Le tout est filtré. J'obtins ainsi la même concentration en levure employée (100 grammes de levure + 500 cent. cubes H^2O), que pour les eaux de levure I, II, III.

A l'ébullition la précipitation est si minime que le liquide paraît à peine opalescent.

Caractères de E.L.IVa. Couleur brun foncé :

Densité	1,0115
Acidité (à la phénolphtaléine)	5,2 c.c. nm. p. 100

Réaction de Millon : coloration rose avec précipité rose.

Expériences avec E. L. IVa (2). — E.L.IV*a*, E.L.IV*a*/2, E.L.IV*a*/5 furent additionnées de 10 p. 100 de saccharose ensemencées d'une goutte de levure haute diluée et placées à 30°.

Après 20 heures il y eut un bon développement pour les essais ainsi que pour un essai comparatif avec l'eau de levure non autolysée (E. L. I). Les résultats suivent au tableau II.

Tableau II.

MILIEUX	DEGRÉ BALLING primitif	APRÈS 20 HEURES A 30° ET 44 HEURES A 20°		APRÈS 20 HEURES A 30° ET 68 HEURES A 20° DEGRÉ BALLING APPARENT
		DEGRÉ BALLING apparent	ATTÉNUATION apparente	
E. L. IV*a*.....	11°7	3°4	72,8 p. 100	1°2
E. L. IV*a*/2..	10°6	1°	90,6 p. 100	— 0°5 Tout le sucre n'a pas disparu.
E. L. IV*a*/5..	10°	0°	100 p. 100	— 1°5 Tout le sucre a disparu.
E. L. I	10°8	2°2	79,6 p. 100	0° Tout le sucre n'a pas disparu.

(1) 93 cent. cubes représentent, approximativement, le volume de 100 gr. de levure, puisque la densité de cette dernière est de 1,07.

(2) E. L. IV*a*. — Eau de levure non diluée.

E. L. IV*a*/2. — Eau de levure diluée de 50 p. 100 à l'eau distillée.

E. L. IV*a*/5. — Eau de levure diluée de 5 fois so volume (20 cent. cubes E. L. + 80 cent. cubes H^2O).

Ce tableau nous fait voir qu'en dilution E.L.IV*a* est au moins aussi nutritive que E.L.III*a* et, par le fait même, que la grande valeur nutritive n'est pas due à la tyrosine. Il faut cependant tenir compte de la possibilité que des traces de tyrosine, ayant pu se dissoudre, aient pu avoir de l'influence.

De plus on remarque encore, comme dans le tableau I, que la qualité de l'azote augmente avec la dilution. Il est donc resté dans E.L.IV*a* la totalité ou une partie des facteurs gênant à certaine dose le développement de la levure; même l'action nuisible paraît plus grande en E.L.IV*a* qu'en E.L.III, vu qu'ici E.L.I est notablement plus favorable que E.L.IV*a* non diluée.

Vu leur production importante pendant l'autolyse de la levure, j'ai voulu examiner comparativement l'influence de la leucine, de la tyrosine, de la peptone de même que de l'asparagine.

Je me suis demandé s'il me serait possible d'élever le développement de la levure et l'atténuation en E.L.I/5 (1) au même degré qu'en E.L.II*a*/5 ou E.L.III*a*/5, en comblant à peu près la différence en azote respectivement par ces différentes substances azotées.

La liqueur type est donc E.L.I/5, contenant 0 gr. 022 de N p. 100 E.L.III*a*/5 contient 0 gr. 068 de N p. 100; la différence entre les deux est ainsi de 0 gr. 046 p. 100. A E.L.I/5 furent ajoutés 0,25 p. 100 respectivement de tyrosine, leucine, asparagine et peptone.

Les résultats suivent dans le tableau III.

Ce tableau montre que l'addition de ces différentes matières azotées à la dose de 0,25 p. 100 favorise le développement de la levure et accélère la fermentation à l'exception de la tyrosine, mais il est remarquable qu'une dose 10 fois plus faible de tyrosine montre une action favorable.

C'est la peptone qui se montre la plus active à la dose citée.

(1) Dans le milieu :
100 eau de ville,
10 p. 100, saccharose,
0,2 p. 100, respectivement de leucine, tyrosine et peptone,
0,05 p. 100, KH^2PO^4,
0,02 p. 100, $MgSO^4$,
la levure brute se développa surtout avec la peptone, beaucoup moins avec la leucine et presque pas avec la tyrosine.

Tableau III.

MILIEUX	DEGRÉ BALLING primitif	DEGRÉ BALLING apparent APRÈS 92 HEURES A 20°
E.L.I/5 + 10 p. 100 saccharose.	9°5	1°1
E.L.I/5 + 0,25 p. 100 tyrosine.	»	1°4
E.L.I/5 + 0,025 p. 100 »	»	— 0°1
E.L.I/5 + 0,25 p. 100 leucine (1)	»	0°
E.L.I/5 + 0,25 p. 100 peptone.	»	— 1°5 Il reste encore une trace de sucre.
E.L.I/5 + 0,25 p. 100 asparagine.	»	— 0°5

(1) La préparation de leucine employée dans ces expériences et les suivantes ne fut pas tout à fait pure ; elle accusa une légère réaction avec le réactif de Millon.

Ces résultats m'ont incité à faire d'autres séries d'expériences en faisant varier la dose des différentes matières azotées.

La liqueur E. L. I/5 + 10 p. 100 saccharose servit toujours de liqueur type.

Il fut fait des essais comparatifs avec E.L.I, E.L.II*a*/5, E.L.III*a*/5. Les résultats se trouvent exposés dans le tableau IV ci-contre.

Après 24 heures, la levure s'est bien développée partout, excepté dans 2 matras : le milieu contenant 0 gr. 083 p. 100 de tyrosine ne donne encore qu'une trace de développement alors que, pour les essais E.L.I/5 + 0 gr. 033 tyrosine et E.L.I/5 + 0 gr. 0083 tyrosine, la multiplication a été bonne.

E.L.I/5 + 0 gr. 66 p. 100 de leucine ne donne encore aucun développement.

Après 43 heures, E.L.I/5 + 0 gr. 083 p. 100 de tyrosine montre une croissance de levure avec dépôt.

E.L.I/5 + 0 gr. 66 p. 100 de leucine ne donne encore qu'un léger trouble, état qui est resté au même point après 68 heures.

Tableau IV.

MILIEUX	DEGRÉ BALLING primitif	DEGRÉ BALLING apparent après 43 h. à 30°	DEGRÉ BALLING apparent APRÈS 68 HEURES A 30°
E. L. I.	11°	3°3	— 0°5
E. L. IIa/5	9°4	1°9	— 1°2 Tout le sucre n'est pas encore fermenté.
E. L. IIIa/5	9°7	1°6	*Id.*
E. L. I/5	9°5	6°3	3°3
E. L. I/5 : 0 gr. 038 p. 100 tyrosine.	9°5	6°0	2°8
E. L. I/5 : 0 gr. 033 p. 100 tyrosine.	*Id.*	6°2	2°7
E. L. I/5 : 0 gr. 083 p. 100 tyrosine.	»	7°8	3°2
E. L. I/5 : 0 gr. 033 p. 100 leucine.	»	5°2	2°1
E. L. I/5 : 0 gr. 083 p. 100 leucine.	»	5°5	1°2
E. L. I/5 : 0 gr. 66 p. 100 leucine.	»	*Spoor. Graci.*	*Spoor. Graci.*
E. L. I/5 : 0 gr. 083 p. 100 asparagine.	»	5°7	1°3
E. L. I/5 : 1 gr. p. 100 asparagine.	»	6°4	2°0
E. L. I/5 : 0 gr. 083 p. 100 peptone.	»	5°2	0°2
E. L. I/5 : 0 gr. 033 p. 100 peptone.	»	4°4	— 0°8
E. L. I/5 : 0 gr. 5 p. 100 peptone.	»	4°2	— 1°0
E. L. I/5 : 1 gr. p. 100 peptone.	»	4°2	— 1°0

Ce tableau nous apprend que la peptone se montre de beaucoup la matière azotée la plus favorable. Cette action augmente avec la dose jusqu'à 0 gr. 33 à 0 gr. 5 p. 100 et, au delà de cette dose (pour autant que j'en ai fait l'expérience jusqu'à 1 p. 100), il n'exerce aucune action nuisible.

La leucine se montre sensiblement favorable à faible dose avec un optimum de 0 gr. 003 à 0 gr. 08 p. 100.

L'asparagine agit comme la leucine à la dose de 0 gr. 083 p. 100. Son effet favorable diminue à une teneur plus élevée quoi qu'elle soit encore avantageuse à 1 p. 100.

La tyrosine favorise légèrement aux doses de 0 gr. 008 à 0 gr. 033 p. 100 et manifeste déjà une influence nuisible à 0 gr. 08 p. 100.

Les résultats qui précèdent sont de nature à faire admettre que, des substances azotées examinées, seule la peptone a une influence telle que son addition à E.L.I/5 rapproche la valeur de cette eau de levure non autolysée de celle de l'eau de levure autolysée.

Voyons si l'addition de petites quantités de leucine et de tyrosine peut encore augmenter le développement de la levure et l'atténuation dans E.L.I/5 contenant une dose optima de peptone.

Le tableau V nous rend compte de quelques expériences à ce sujet.

Les faits établissent, indépendamment de l'effet de la peptone, une action favorable faible pour la tyrosine, mais plus prononcée pour la leucine.

L'influence se manifeste par une fermentation plus rapide.

J'appelle encore l'attention sur les résultats du dernier essai du tableau V où l'addition de 0,033 p. 100 de tyrosine à un milieu très favorable y diminue sensiblement la rapidité de fermentation.

Ce fait prouve que ces deux doses, isolément avantageuses, respectivement de tyrosine et de leucine, exercent ensemble dans un milieu un effet nuisible.

Ces expériences nous confirment encore les résultats du tableau IV, en ce sens que la tyrosine est défavorable à une dose bien plus faible que la leucine et que, même à sa dose

optima, l'influence avantageuse de la tyrosine est notablement moins importante que celle de la leucine.

L'examen du nombre de cellules produites nous montre, dans le tableau V ci-dessous, comme dans le tableau I, que l'atténuation plus rapide correspond à la présence d'un plus grand nombre de cellules de levure et, par le fait même, que l'influence des matières azotées citées se résume en une multiplication plus intense de la levure.

Tableau V.

MILIEUX (1)	DEGRÉ BALLING primitif	DEGRÉ BALLING apparent après 46 heures à 30°	DEGRÉ BALLING APPARENT après 70 heures à 30°	NOMBRE de CELLULES par 1 c.c.
E.L. III*a*/5	9°4	0°6	— 1°5 Il reste une trace de sucre.	62.800.000
E.L. I/5	9°3	5°6	+ 2°8 Il reste du sucre.	35.000.000
E.L. I/5 : 1 p. 100 peptone.	»	2°0	— 0°8 Il reste du sucre.	51.600.000
E.L. I/5 : 0,5 p. 100 peptone.	»	2°0	— 0°8 Il reste du sucre.	48.800.000
E.L. I/5 : 0,5 p. 100 peptone. 0,033 p. 100 leucine. 0,016 p. 100 tyrosine.	»	1°7	— 0°8 Il reste du sucre.	58.200.000
E.L. I/5 : 0,5 p. 100 peptone. 0,066 p. 100 leucine.	»	1°2	— 0°9 Il reste du sucre.	60.000.000
E.L. I/5 : 0,5 p. 100 peptone. 0,066 p. 100 leucine. 0,033 p. 100 tyrosine.	»	2°7	— 0°9 Il reste du sucre.	48.800.000

(1) Comme pour tous les essais précédents, il fut ajouté 10 p. 100 de saccharose et l'ensemencement se fit au moyen d'une goutte de levure haute, diluée dans H^2O stérile.

Un essai fait, comparativement avec les essais du tableau V, avec de l'extrait de malt de 10° Balling donna, dans les mêmes

conditions, 60.040.000 cellules, chiffre comparable à celui obtenu avec les meilleurs milieux tels que E. L. III*a*/5 et E. L. I + 0,066 p. 100 de leucine. Je remarque encore ici l'analogie de valeur nutritive entre l'eau de levure analysée et le moût de malt, se manifestant dans le même sens que la réaction de Millon et du biuret.

Ce qui constitue la conclusion la plus importante du tableau V résulte du fait que, par l'addition de petites doses de tyrosine, et spécialement de leucine, à de l'eau de levure non autolysée (E. L. I/5), ayant reçu une dose optima de peptone, j'ai pu ramener la valeur nutritive de cette eau de levure non autolysée à peu près à la valeur de l'eau de levure autolysée.

Il est vrai que ces résultats ne me permettent pas d'en déduire que cette constitution en partie artificielle, obtenue avec de l'eau de levure non autolysée, correspondrait approximativement à la constitution réelle de l'eau d'autolysat de la levure. Mais la probabilité que justement ces substances dont j'ai examiné l'influence jouent le plus grand rôle dans la qualité des eaux de levure autolysée ne manque cependant pas de fond, vu que les recherches antérieurement citées (1) d'autres auteurs ont établi que, parmi les produits autolytiques de la levure, la leucine, la tyrosine, l'asparagine et l'adénine sont les plus assimilables. Et, d'autre part, tous les auteurs qui se sont occupés de la question ont été unanimes à se déclarer pour la valeur prépondérante de la peptone.

On peut être tenté de croire que par l'autolyse prolongée, la transformation des matières azotées se fera complète jusqu'aux stades amines et amides, de sorte que l'eau de levure faite avec un tel autolysat ne contiendrait plus de ce qu'on appelle des peptones et des albumoses, qui, dans le cas d'exactitude de cette hypothèse, ne seraient que des produits intermédiaires temporaires. Mais une telle hypothèse ne correspond pas à la réalité, car, après une autolyse prolongée, l'extrait de l'autolysat continue toujours à donner un précipité avec l'alcool, et cette précipitation, loin de diminuer avec le temps d'autolyse, augmente avec celui-ci jusqu'à un certain degré, au delà duquel l'importance de la précipitation reste à peu près la même. Ainsi E. L. III*a*

(1) Voir la note au bas de la page 612.

(autolysée pendant 23 heures à 48-49°) et E. L. IV*a* (autolysée pendant 4 jours) accusent le plus grand précipité, apparemment de même intensité pour les deux; puis suit E. L. II*a* (autolysée pendant 7 heures). et la précipitation la plus faible est obtenue pour l'eau de levure non autolysée E. L. I.

Le fait que la quantité de peptones et albumoses est si forte dans l'eau de levure autolysée soulève deux hypothèses :

1° Ou bien il faudrait croire que ces produits se forment aux dépens des albumines par une enzyme spéciale incapable de les décomposer plus complètement, et que les produits soient de nature telle qu'ils restent inattaquables par les autres enzymes protéolytiques de la cellule de levure.

2° Ou bien, hypothèse (1) qui me paraît plus plausible, il faudrait trouver l'explication dans la possibilité que les enzymes protéolytiques soient gênées par leurs propres produits à partir d'une certaine dose et soient, par le fait de cette influence, condamnées à l'inactivité.

Cette hypothèse ne vise que l'action enzymatique dégradant les peptones en amides et amines, car, comme j'ai fait voir plus haut, la transformation des albumines en peptones et albumoses s'effectue complètement.

Ma deuxième hypothèse pourrait trouver un appui dans le fait que des quantités faibles seulement de tyrosine et de leucine ont pu être extraites de la levure après autolyse prolongée, notamment par Schenk (2) (20 grammes de leucine et 15 grammes de tyrosine aux dépens de 4 kilogrammes de levure pressée) et par Ehrlich (3) et Wendel (qui ont retiré 2 grammes de leucine pure de 3 kilogrammes de levure haute de brasserie). Ces chiffres sembleraient devoir être beaucoup plus élevés dans le cas où, pendant l'autolyse, les enzymes protéolytiques pourraient amener toutes les matières azotées au stade limite de la transformation tryptique.

Je dois me borner à ces hypothèses qui, comme on le voit,

(1) Dans le cas où cette seconde hypothèse répondrait à la réalité, il serait possible que, dans un milieu d'autolyse plus dilué (macération aqueuse de la levure), l'autolyse atteigne une dégradation plus avancée des matières azotées de la levure.

(2) Schenk, *l. c.*

(3) Ehrlich et Wendel. *Biochem. Zeitschr.*, Bd 8, p. 410, 1908.

soulèvent encore quantité de questions qu'il sera intéressant de résoudre.

Après ce qui précède, il me paraît que l'explication de la valeur nutritive de l'autolysat dilué de la levure doit se trouver dans le mélange d'une série de produits protéolytiques dans lequel la peptone, en plus ou moins grande quantité, joue le rôle prépondérant et dans lequel de petites doses d'une multitude d'autres substances, parmi lesquelles la leucine, l'asparagine, un peu moins la tyrosine, et sans doute d'autres encore, exercent une action favorable indépendamment de la peptone.

La grande valeur nutritive de l'extrait de malt doit être cherchée dans la même cause qui donne sa valeur nutritive à l'eau de levure autolysée, c'est-à-dire la protéolyse. Il est d'ailleurs bien connu que pendant la germination de l'orge et pendant l'empâtage de la farine de malt (jusqu'à la saccharification), il s'opère une dégradation des matières azotées.

Il y a toutes raisons de croire que ce processus protéolytique dans l'orge et dans le malt a beaucoup d'analogie avec le processus protéolytique de la levure en état d'autolyse, et que, dans le moût de malt, on trouvera des produits analogues à ceux qui constituent l'eau de levure autolysée. Cet ensemble de produits cités ci-dessus, tout comme dans l'eau de levure autolysée, détermine la valeur nutritive du moût.

C'est probablement aussi à cet ensemble de produits qu'il faut attribuer la bonne réputation dont jouit la peptone végétale et qui fait que cette dernière se montre mieux appropriée à la culture de la levure et de certains microbes des industries de fermentation, spécialement des ferments lactiques, que la peptone animale.

B. — Microbes lactiques.

Les essais exposés dans le tableau VI furent exécutés avec 2 bactéries lactiques (1), *C* III et *C* IV (*Lactobacterium conglomeratum* III et IV). *C* III ne produit que de l'acide lactique;

(1) Ces 2 microbes appartiennent à la classe des « ferments lactiques actifs » de *Beïjerinck* (*Arch. néerland. des Sc. exact. et natur.*, 1901).

CIV produit, à côté de l'acide lactique, environ 44 p. 100 d'acide volatil.

Les 3 eaux de levure I, II*a*, III*a*, à caractères déjà suffisamment décrits plus haut, furent employées comme pour les expériences avec la levure à 3 concentrations différentes :

1° Eau de levure telle quelle (E. L.).

2° Eau de levure diluée de moitié (50 p. 100 E. L. + 50 p. 100 H^2O) (E. L. 1/2)).

3° Eau de levure diluée de 90 p. 100 (10 p. 100 E.L. + 90 p. 100 H^2O) (E.L. 1/10).

A tous les milieux fut ajouté 10 p. 100 de glucose. Comme contrôle, furent ensemencés en même temps des échantillons des eaux de levure non diluées sans addition de sucre.

L'ensemencement s'est fait avec une goutte d'une suspension de microbes lactiques, dans de l'eau stérile.

La culture a eu lieu à la température de 30°.

L'acidité (1) fut déterminée après six jours, avec la phénolpthaléine comme indicateur, en neutralisant 10 cent. cubes de culture dilués avec à peu près 50 cent. cubes H^2O, par KOH 1/10 nm.

Tableau VI.

CIII				
EAU DE LEVURE	EAU DE LEVURE non diluée sans sucre CONTRÔLE	EAU DE LEVURE non diluée (E. L.) + 10 p. 100 GLUCOSE	EAU DE LEVURE diluée de 50 p. 100 (E. L. 1/2) + 10 p. 100 GLUCOSE	EAU DE LEVURE diluée de 90 p. 100 (E. L. 1/10) + 10 p. 100 GLUCOSE
E. L. I.	1,3	11,6	8,1	2,15
E. L. II*a*. . . .	2,9	14,8	9,95	2,8
E. L. III*a* . . .	4,5	15,7	11,0	3,7

(1) L'acidité est toujours exprimée par le nombre de centimètres cubes et de KOH normal, nécessaires à la neutralisation de 100 cent. cubes de culture.

Tableau VII.

	CIV			
EAU DE LEVURE	EAU DE LEVURE non diluée sans sucre CONTROLE	EAU DE LEVURE non diluée (E. L.) + 10 p. 100 GLUCOSE	EAU DE LEVURE diluée de 50 p. 100 (E. L. 1/2) + 10 p. 100 GLUCOSE	EAU DE LEVURE diluée de 90 p. 100 (E. L. 1/10) + 10 p. 100 GLUCOSE
E.L. I	1	9,4	5,9	1,65
E.L. II*a*. . . .	2,45	13,4	8,5	2,6
E.L. III*a* . . .	3,7	14,0	9,3	2,6

Ces expériences confirment parfaitement les résultats obtenus pour la levure, en ce sens que, pour les ferments lactiques aussi bien que pour la levure, les eaux de levure autolysée montrent une valeur indubitablement plus grande que l'eau de levure non autolysée.

Je fais remarquer que, spécialement pour *C*III, l'acidification progresse notablement plus vite dans ces milieux d'eau de levure que dans l'extrait de malt. En effet, un moût de 10° Balling, ensemencé dans les mêmes conditions, accuse, après six jours à 30°, une acidité (à la phénolpthaléine) de 6,7 pour *C*III et de 11,4 pour *C*IV.

Cette prédilection de *C*III pour les produits protéolytiques s'est toujours manifestée pendant l'étude approfondie de ce microbe.

Dans tous les essais, l'acidité a été proportionnelle au développement, qui va croissant de E.L. I à E.L II*a* et E.L. III*a*; ceci est aussi le cas pour le développement, dans les essais de contrôle. La légère diminution d'acidité (1), qu'on remarque dans les expériences de contrôle pour *C*IV, doit être attribuée à l'utilisation d'une petite quantité d'amides ou amines acides

(1) Je rappellerai que les acidités initiales des eaux de levure furent : pour E.L. I, 1,2; pour E.L. II, 3,0 et pour E.L. III, 4,2.

pour le développement du microbe, sans qu'il y ait eu formation d'acide. Il ressort encore du tableau VI que, pour les ferments lactiques, à l'encontre de ce qui eut lieu pour la levure, le développement se fait le plus fort dans les eaux de levure autolysée non diluées. Leur développement et acidification sont proportionnels à la quantité d'azote du milieu.

Ce fait prouve que certaines substances, telles que la tyrosine et la leucine, n'exercent pas, à la dose à laquelle elles se trouvent dans l'eau de levure autolysée, sur les microbes lactiques, l'influence défavorable qu'elles montrent vis-à-vis de la levure.

CONCLUSIONS

Immédiatement après la mort de la cellule de levure, celle-ci perd son eau cellulaire et devient, par le fait même, notablement plus petite. Dans le cas où la levure morte a conservé son activité enzymatique et spécialement protéolytique, il se produit, après un temps variable avec la température, ce qu'on peut appeler la « liquéfaction de la levure ».

L'optimum de température pour l'endotryptase se trouve à 45-50° et le maximum à 53°.

L'optimum pour l'autolyse de la levure soumise à l'expérience à l'état vivant se trouve à 48-50°.

Comme indices de la bonne marche et de la fin de l'autolyse, peuvent être considérées l'augmentation de l'acidité (au tournesol ou à la phénolpthaléine) jusqu'à un certain degré fixe, et la cristallisation de la tyrosine dans l'autolysat.

L'eau de levure, obtenue par simple ébullition de la levure fraîche dans l'eau, ne contient que 1/3 de l'azote total de la levure. L'autolyse préalable pendant 23 heures à 48-49°, transforme tout l'azote de la levure en azote soluble non coagulable par la chaleur. L'eau de la levure autolysée est beaucoup plus nutritive pour la levure et les microbes lactiques que l'eau de levure obtenue par simple ébullition. Indépendamment de la quantité, la qualité de l'azote a fortement augmenté par l'autolyse.

Dans l'eau de levure autolysée à la concentration de 20 grammes de levure p. 100 cent. cubes H^2O, il existe des

produits qui sont défavorables au développement de la levure. Par dilution, cette action nocive se change en une influence favorable.

Parmi les substances agissant dans ce sens, il faut considérer la tyrosine et la leucine comme deux des principaux produits autolytiques.

La leucine est encore favorable à la dose de 0 gr. 08 p. 100 et arrête tout développement à 0 gr. 66 p. 100.

La tyrosine, favorable jusqu'à 0,05 p. 100, est nuisible au delà de cette dose.

L'asparagine devient nuisible au delà de 1 p. 100.

Ces produits, nuisibles à la levure aux doses auxquelles ils se trouvent dans l'eau de la levure autolysée, n'exercent, à ces mêmes doses encore, aucune influence défavorable sur les ferments lactiques.

La valeur de l'eau de levure autolysée doit être attribuée à un mélange de produits protéolytiques, dans lequel la peptone joue le rôle prépondérant et où de petites quantités d'une série de substances, entre autres la leucine, l'asparagine et la tyrosine, exercent, indépendamment de la peptone, une influence favorable sur le développement de la levure, de même que des microbes lactiques.

La raison de la valeur de l'extrait de malt doit se chercher dans la présence d'une série de produits protéolytiques analogues à ceux de l'autolyse de la levure.

(Travail fait au Laboratoire de Microbiologie
de l'École technique supérieure à Delft.)

Delft, le 30 juin 1917.

TABLE DES MATIÈRES

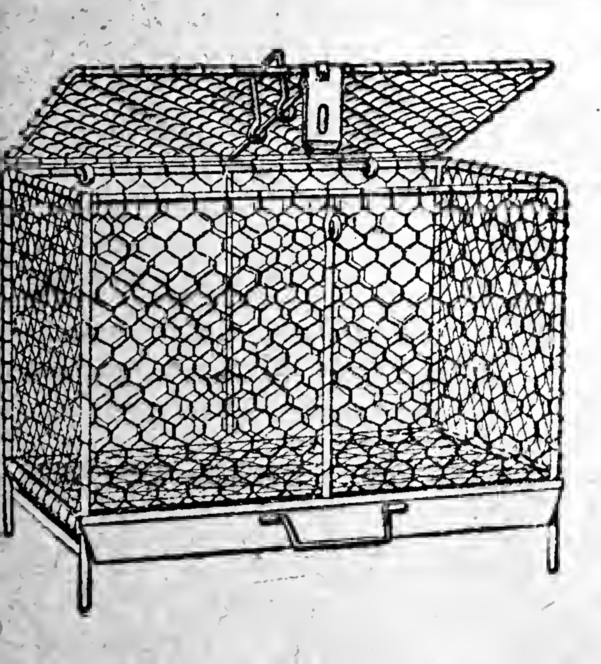
TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

TABLE DES PLANCHES

TABLEAU HORS TEXTE

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.



Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

